

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

20 DEC 2004

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. Januar 2004 (08.01.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/003538 A2(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 27/30,
C12Q 1/68(DE). KUHLMIEIER, Dirk [DE/DE]; Kirchenweg 4,
90419 Nürnberg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/006818

(74) Anwalt: GASSNER, Wolfgang; Nägelsbachstr. 49 A,
91052 Erlangen (DE).(22) Internationales Anmeldedatum:
27. Juni 2003 (27.06.2003)(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 29 210.8 28. Juni 2002 (28.06.2002) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): NOVEMBER AKTIENGESELLSCHAFT
GESELLSCHAFT FÜR MOLEKULARE MEDIZIN
[DE/DE]; Ulrich-Schalk-Str. 3 a, 91056 Erlangen (DE).(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHÜLEIN, Jürgen
[DE/DE]; Ringstr. 27, 91080 Spardorf (DE). KUGLER,
Christine [DE/DE]; Ringstr. 27, 91080 Spardorf (DE).
MERIC, Burcu [TR/DE]; Am Färberhof 6, 91052 Erlan-
gen (DE). KOSAK, Hans [DE/DE]; Von-Witzleben-Str.
23, 53123 Bonn (DE). HASSMANN, Jörg [AT/DE];
Hofmannstr. 118a, 91052 Erlangen (DE). GRASSL,
Björn [DE/DE]; Karl-Jatho-Weg 15, 90415 Nürnberg

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des BerichtsZur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: DEVICE FOR DETECTING AN ANALYTE

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR DETEKTION EINES ANALYTEN

(57) Abstract: The invention relates to a device (17) for detecting an analyte in a liquid having a multitude of electrodes (15), which are insulated from one another while being arranged on a first side (12) of an electrically non-conductive plate (10) that is impermeable to the liquid. Said electrodes (15) have, at least in part, an analyte-specific coating or analyte-specific molecules. Electrical conductors that pass through the plate (10) can, from a second side (14) of the plate, be electrically contacted and individually discharged. The coating or the molecules has/have a specific affinity to the analytes or to a substance formed due to the presence of the analyte. In addition, the device has no leakages.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung (17) zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit einer Vielzahl von auf einer ersten Seite (12) einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte (10) angeordneten voneinander isolierten Elektroden (15), wobei die Elektroden (15) zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte (10) durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite (14) der Platte her elektrisch kontaktierbar und einzeln ableitbar sind, wobei die Beschichtung oder die Moleküle eine spezifische Affinität für den Analyten oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz aufweist/aufweisen und wobei die Vorrichtung keine Ableitungen aufweist.

Vorrichtung zur Detektion eines Analyten

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Detektion eines in einer Flüssigkeit enthaltenen Analyten und eine Messvorrichtung. Der Analyt kann gelöst oder suspendiert vorliegen. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung und elektrischen Kontaktierung der Vorrichtung. Darüber hinaus betrifft die Erfindung eine Verwendung der Vorrichtung zur Detektion eines Analyten.

Aus der DE 197 08 529 C1 ist ein Fluidsensor für flüssige und gasförmige organische Verbindungen bekannt. Der Fluidsensor weist einen infolge eindringenden Fluids in seiner elektrischen Leitfähigkeit veränderlichen elektrischen Sensorwiderstand auf. Der Sensorwiderstand ist auf einem nicht leitenden Substrat aufgebracht. Er besteht aus einem von dem betreffenden Fluid diffundierbaren Nichtleiter und darin eingebetteten Kohlenstoffpartikeln. Der Sensorwiderstand kann über Elektroden kontaktiert sein, die durch Durchbohrungen des Substrats hindurch mit Kontaktflächen auf der Rückseite des Substrats kontaktiert sind. Die Kontaktflächen stellen eine elektrische Verbindung zwischen mehreren der Elektroden her. Der Fluidsensor ist nur zur Detektion organischer Verbindungen geeignet, welche die Leitfähigkeit des Sensorwiderstands verändern. Er ist nicht zur Detektion anderer Analyte geeignet.

Aus Sosnowsky et al., (1997) Proc. Natl. Acad. Sci USA, 94, Seiten 1119 bis 1123 ist ein Silizium-Chip mit einer Anordnung von Elektroden zum Nachweis einer Nukleinsäure in einer Lösung bekannt. Auf den Elektroden sind über eine Zwischenschicht Fänger-Moleküle immobilisiert, die Analyten spezifisch binden. Die Elektroden werden durch Leitungen auf der Oberfläche des Chips elektrisch kontaktiert. Die Leitungen sind durch eine Siliziumnitrid-Schicht isoliert. Durch Anlegen eines negativen oder positiven Potentials an die Elektro-

den können geladene Analyte zu den Elektroden mit den Fänger-Molekülen gezogen werden und an die Fänger-Moleküle binden. Ungebundene oder unspezifisch gebundene Analyten können durch Umpolen wieder von dem Bereich der Elektroden entfernt werden. Die Detektion des spezifisch gebundenen Analyten erfolgt mittels Fluoreszenz.

Weiterhin ist von der Firma Motorola ein unter der Bezeichnung eSensorTM vertriebener Biochip bekannt, bei dem auf der Oberfläche Goldelektroden angeordnet sind. Die Goldelektroden sind seitlich auf der Oberfläche des Biochips kontaktiert. An den Elektroden sind über eine Zwischenschicht Fänger-Moleküle immobilisiert. Der Nachweis eines über die Fänger-Moleküle an eine Elektrode gebundenen Analyten erfolgt mittels Reportermolekülen, welche an den gebundenen Analyten binden und elektrochemisch detektierbare Marker aufweisen. Die Bindung dieser Reportermoleküle wird elektrochemisch nachgewiesen.

Aus der EP 0 136 362 B1 ist ein Biosensor zur Messung der Substratkonzentration einer Flüssigkeitsprobe bekannt. Der Biosensor besteht aus einer isolierenden Substratplatte, die mit einem Elektrodensystem mit zumindest einer Arbeitselektrode und einer Gegenelektrode versehen ist. Das Elektrodensystem ist von einem porösen, eine Oxidoreduktase enthaltenden Substrat bedeckt, das Flüssigkeit aufnehmen kann und ein Enzym enthält, welches zur Induzierung einer mittels des Elektrodensystems elektrochemisch nachweisbaren Substratreaktion fähig ist. Der Sensor weist weiterhin einen Elektronenakzeptor auf. Sowohl die Oxidoreduktase als auch der Elektronenakzeptor sind in der Flüssigkeitsprobe löslich.

Die DE 36 87 646 T3 betrifft einen Biosensor mit einem Elektrodensystem, wie es aus der EP 0 136 362 B1 bekannt ist, wobei das Elektrodensystem hauptsächlich aus Kohlenstoff besteht und die Oberfläche von wenigstens der Messelektrode mit Albumin oder Glucoseoxidase durch Adsorption bedeckt ist.

Nachteilig an den aus der EP 0 136 362 B1 und der DE 36 87 646 T3 bekannten Biosensoren ist, dass das poröse Substrat nach jeder Messung ausgetauscht werden muss und dass der Biosensor nicht zur Messung von Konzentrationen von Analyten geeignet ist, die nicht Substrat der Oxidoreduktase sind. Ferner ist es nachteilig, dass der Biosensor nicht zur Messung vieler verschiedener Analyte auf einer miniaturisierten Substratplatte geeignet ist.

- 10 Die DE 196 21 241 A1 betrifft eine Membranelektrode zur Messung der Glucosekonzentration in Flüssigkeiten. Diese Membranelektrode besteht aus einer Grundmembran mit wenigstens einer Edelmetallelektrode, die auf einer Seite der Grundmembran angeordnet ist, einer auf der Grundmembran und der Edelmetallelektrode angeordneten protonenselektiven Ionenmembran und einer auf der Ionenmembran angeordneten Doppelmembran, in welcher Glucoseoxidase in einem geeigneten Medium enthalten ist. Die Membranelektrode ist ausschließlich zur Messung von Glucosekonzentrationen und nicht zum Nachweis anderer Analyten in einer Flüssigkeit geeignet.

Aus der WO 01/75151 A2 und der deren Priorität begründenden DE 100 15 816 A1 ist ein Biosensorchip bekannt. Der Sensor weist Elektroden auf, die in einer Isolatorschicht aus Isolatormaterial eingebettet sind. Auf jeder Elektrode sind DNA-Sondenmoleküle immobilisiert. Die Sensoren sind Bestandteil eines Biosensorchips auf Siliziumbasis. An den Elektroden sind Elektrodenanschlüsse angeschlossen, an denen das an der Elektrode anzulegende elektrische Potenzial zugeführt werden kann. Die Elektrodenanschlüsse sind mit einer integrierten elektrischen Schaltung innerhalb des Chips verschaltet. Nachteilig ist dabei, dass der Biosensorchip in seiner Herstellung zu teuer ist, um als nur einmal zu verwendender Sensorchip eingesetzt werden zu können. Bei die Sondenmoleküle an-

greifenden oder verändernden Analyten kann dies jedoch für reproduzierbare Messungen erforderlich sein.

- 5 Aus der EP 0 690 134 A1 ist ein mehrfach verwendbarer elektrochemischer Festkörpersensor mit einem elektrisch nicht leitenden Substrat, einer Arbeitselektrode und einer semipermeablen Membran, welche die Arbeitselektrode bedeckt, bekannt. Die Arbeitselektrode enthält ein elektrisch leitfähiges Material, welches an einem Teil des Substrats befestigt ist. Ein erster Teil des leitfähigen Materials ist mit einer elektrisch isolierenden dielektrischen Beschichtung bedeckt und ein zweiter Teil des leitfähigen Materials ist mit einer aktiven Schicht bedeckt. Die aktive Schicht beinhaltet eine katalytisch wirksame Menge eines Enzyms, welches von platinisierten Kohlenstoffpulver-Partikeln getragen wird, die innerhalb der aktiven Schicht verteilt sind. Der elektrochemische Festkörpersensor ist verhältnismäßig aufwändig gebaut und daher in der Herstellung teuer.
- 10 20 Aus der US 5,363,690 ist ein Gasdetektor bekannt, welcher eine austauschbare elektrochemische Sensorvorrichtung enthält. Der elektrische Kontakt zwischen der austauschbaren Sensorvorrichtung und einer Auswerteeinheit für Messsignale wird über einen Elastomer-Verbinder hergestellt. Die Vorrichtung ist nicht zum Detektieren eines Analyten in einer Flüssigkeit geeignet.
- 25

- 30 Aus der WO 01/13103 A1 sind Elektroden mit einer Oberflächen-Beschichtung aus einer oxidierten Phenolverbindung bekannt, wobei in die Beschichtung ein oberflächenaktives Agens integriert ist. Dieses Agens kann die Detektion bestimmter Detergenz-sensitiver Analyte verhindern. Die Elektrode ist daher nur zur Detektion bestimmter Analyte einsetzbar.

Aus der EP 0 402 917 A2 ist ein Biosensor bekannt, der mindestens zwei beabstandete elektrische Leitungen auf einem elektrisch nicht leitenden Träger enthält. Mit den elektrischen Leitungen steht eine elektrisch leitende organische polymerisierte Schicht aus einer oberflächenaktiven Substanz in elektrischem Kontakt und bedeckt die Oberfläche zwischen den Leitungen. Weiterhin ist eine Versiegelungsbeschichtung angebracht, um die elektrischen Kontakte vor einem Kontakt mit Wasser zu schützen. An die polymerisierte Schicht aus der oberflächenaktiven Substanz ist eine Schicht aus organischen Molekülen gebunden, an die komplementäre Moleküle aus einem wässrigen Medium binden können.

Aus der EP 0 987 333 A2 ist eine Zusammensetzung für einen elektrischen Dickschicht-Leiter zur Verwendung in elektrochemischen Sensoren bekannt, welche leitende Metallpartikel, Grafit, ein thermoplastisches Polymer und eine oberflächenaktive Substanz enthält. Die Verbindung kann zum Drucken von Arbeitselektroden für elektrochemische Biosensoren verwendet werden. Wegen der Sensitivität bestimmter Analyten gegenüber oberflächenaktiven Substanzen sind solche Sensoren jedoch nur zur Detektion bestimmter Analyten geeignet.

Die genannten Elektroden bzw. Elektrodenanordnungen sind aufwändig herzustellen. Deren Herstellung erfordert z.T. lithografische Techniken. Sie sind in der Herstellung zu teuer, um sie als nur einmal zu verwendende Elektroden bzw. Elektrodenanordnungen einzusetzen. Bei hohen Elektrodendichten ist es erforderlich, die Ableitungen der Elektroden in mehreren Schichten, in der so genannten Multilayer-Technik, bereitzustellen. Hohe Elektrodendichten sind daher nur mit erheblichem Herstellungsaufwand möglich. Um den Kontakt der elektrischen Leitungen zu den Elektroden mit einer den Analyten enthaltenden Lösung zu verhindern, muss eine Schutzschicht auf die Leitungen aufgetragen werden. Weiterhin ist es für be-

stimmte Anwendungen, z. B. als Boden einer Mikrofluidkammer, erforderlich, dass der Biochip eine glatte Oberfläche aufweist. Um die durch die Leitungen bedingten Unebenheiten auszugleichen muss daher eine Ausgleichsschicht aufgetragen werden.
5

Aufgabe der Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu vermeiden. Insbesondere soll eine Vorrichtung mit Elektroden zur Detektion eines Analyten bereitgestellt werden, die einfach und damit kostengünstig herzustellen ist.
10

Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1, 18 bis 22, 35 und 38 gelöst. Zweckmäßige Ausgestaltungen ergeben sich aus den Merkmalen der Ansprüche 2 bis 17, 23 bis 34, 36, 15 37 und 39 bis 51.

Erfindungsgemäß ist eine Vorrichtung zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit einer Vielzahl von auf einer ersten Seite einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte angeordneten voneinander isolierten Elektroden vorgesehen, wobei die Elektroden zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite der Platte her elektrisch kontaktierbar und einzeln ableitbar sind. Die Beschichtung oder die Moleküle ist/sind Analyt-spezifisch, indem sie eine spezifische Affinität für den Analyten oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z. B. ein Abbauprodukt des Analyten, aufweist bzw. aufweisen. Die Vorrichtung weist keine Ableitungen auf. Die elektrischen Leiter können mit der Platte und den Elektroden verbunden sein. Der Begriff "Elektrode" wird rein funktionell verstanden. Darunter wird der Teil eines elektrischen Leiters verstanden, durch den elektrische Ladungsträger in die Flüssigkeit geleitet werden können. Die Elektrode kann
20
25
30
35

somit der Teil des elektrischen Leiters sein, der sich auf der ersten Seite der elektrisch nicht leitenden Platte befindet. Es kann sich bei der Elektrode aber auch um einen mit dem die Platte durchspannenden elektrischen Leiter verbundenen weiteren elektrischen Leiter handeln. Unter Platte wird hier ein beliebiger, insbesondere flacher, eine erste und eine zweite Seite aufweisender Grundkörper verstanden. "Teilweise" bedeutet hier und im Folgenden, dass sowohl ein Teil einer einzelnen Elektrode als auch ein Teil der insgesamt vorhandenen Elektroden das jeweilige Merkmal aufweisen kann.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist einfach und damit kostengünstig herzustellen. Es ist nicht erforderlich eine Schutzschicht aufzutragen, um einen Kontakt der Flüssigkeit mit Elektrodenzuleitungen zu verhindern. Weiterhin ist es nicht erforderlich, eine Ausgleichsschicht aufzutragen, um eine ebene Oberfläche der Platte herzustellen. Durch das Entfallen der seitlichen Ableitungen ist es sehr kostengünstig möglich ist, die Vorrichtung in dem Bereich außerhalb der Elektroden völlig plan auszuformen. Dadurch kann die Vorrichtung gut als Boden einer Flüssigkeit aufnehmenden Kammer verwendet werden, ohne dass eine flüssigkeitsdichte Abdichtung dabei problematisch wäre. Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Vorrichtung besteht darin, dass eine höhere Elektrodendichte als mit seitlich abgeleiteten Elektroden möglich ist, weil zwischen den Elektroden kein Raum für die Leitungen freigelassen werden muss. Die höhere Elektrodendichte ist ohne eine aufwändige Multilayer-Technik bereitstellbar. Durch eine erfindungsgemäße Vorrichtung mit hoher Elektrodendichte und Analyt-spezifischen Beschichtungen oder Analyt-spezifischen Molekülen mit zumindest teilweise unterschiedlicher Spezifität und einzeln ableitbaren Elektroden ist es möglich, eine Vorrichtung zur gleichzeitigen Detektion vieler verschiedener Analyte bereitzustellen. Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann als Elektrodenarray, bei dem die

Elektroden jeweils mit spezifischen Molekülen oder Beschichtungen versehen sind, zum Detektieren verschiedener Analyte oder Analytkombinationen bereitgestellt werden.

- 5 Der allgemeine Trend bei der Entwicklung von Biosensor-Chips geht dahin, immer komplexere Chipstrukturen zu realisieren. Diese sind jedoch in der Herstellung aufwändig und letztendlich zu teuer für eine Routinesensorik, insbesondere verschiedener Analyte. Bekannte auf Siliziumbasis hergestellte
- 10 Chips weisen keine den Chip so durchspannende elektrische Leiter auf, dass auf dem Chip auf einer Seite vorhandene Elektroden von der anderen Seite abgeleitet werden könnten. Vielmehr ist zumindest ein Teil des Siliziumträgers undurchbrochen und vorhandene Elektroden werden letztendlich seitlich
- 15 abgeleitet. Der Verzicht auf jegliche Ableitung bei gleichzeitiger Kontaktierbarkeit von der zweiten Seite der Platte her ermöglicht einen so einfachen Aufbau der erfindungsgemäßen Vorrichtung, dass diese derart kostengünstig hergestellt werden kann, dass sie zum einmaligen Gebrauch geeignet ist. Messungen, bei denen die Elektroden, deren Analyt-spezifische Beschichtungen oder die Analyt-spezifischen Moleküle angegriffen werden, können reproduzierbar nur mit einer Vorrichtung zum einmaligen Gebrauch durchgeführt werden. Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann in Form eines
- 25 Chips zu einem Bruchteil der zur Herstellung eines Siliziumbasierten Chips erforderlichen Kosten hergestellt werden. Die Vorrichtung kann somit zu einem Durchbruch in der Routinesensorik beitragen. Die erfindungsgemäße Vorrichtung kann in einem zur Kontaktierung der Vorrichtung vorgesehenen Gerät eingesetzt werden. Alle zum Ableiten und Messen eines Signals erforderlichen nicht von der erfindungsgemäßen Vorrichtung bereitgestellten Komponenten werden dabei von dem Gerät bereitgestellt. Teure Komponenten sind somit wiederverwendbar.
- 30

Ein weiterer Vorteil der Erfindung besteht darin, dass die Kontaktierung von der zweiten Seite der Platte her kurze Leitungswege ermöglicht. Dadurch kann ein durch die verhältnismäßig langen Leitungswege bei seitlicher Ableitung der Elektroden verursachtes elektrisches Rauschen vermieden werden. Das elektrische Rauschen vermindert die Sensitivität der Detektion und kann dadurch die Detektion des Analyten sogar verhindern.

- 5 Bei einer vorteilhaften Ausgestaltung sind die elektrischen Leiter zusammen mit den Elektroden einstückig ausgebildet. Die Elektroden und die Leiter können aus demselben Material bestehen. Das ermöglicht eine gute Kontaktierbarkeit von der zweiten Seite her und eine sehr kostengünstige Herstellung.
- 10 Es ist nicht erforderlich auf der ersten Seite der Platte einen elektrischen Kontakt zwischen den Elektroden und den elektrischen Leitern herzustellen.

- 15 Die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle an den Elektroden können jeweils unterschiedlich sein, so dass sich verschiedene Elektroden dadurch voneinander unterscheiden. Dadurch können die Analyt-spezifischen Beschichtungen oder Analyt-spezifischen Molekülen eine unterschiedliche Spezifität aufweisen und eine, insbesondere gleichzeitige, Detektion verschiedener Analyte ermöglichen. Ein detektierbarer Analyt ist dabei Mitglied einer Gruppe, die durch die Spezifität der unterschiedlichen Beschichtungen oder Moleküle vorgegeben ist.

- 20 Die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle können, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle umfassen. Fänger-Moleküle sind dabei Moleküle, an die der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z. B. ein Abbauprodukt des Analyten, aus der Flüssigkeit heraus bindet. Die Fänger-Moleküle sind elektroche-
- 25
- 30
- 35

5 misch inert, wenn sie bei einer elektrochemischen Detektion des Analyten kein Signal verursachen. Bei den Fänger-Molekülen kann es sich um, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher handeln. Die Fänger-Moleküle können kovalent und/oder gerichtet an die Elektroden gebunden sein. Der Vorteil der kovalenten Bindung besteht darin, dass die Fänger-Moleküle nicht von den Elektroden abdiffundieren können. Bei den mit der erfindungsgemä-

10 ßen Vorrichtung möglichen sehr kleinen Abständen zwischen den Elektroden kann bereits eine geringe Abdiffusion von Fänger-Molekülen zu einer Störung einer Nachweisreaktion führen. Unter einer gerichteten Bindung ist zu verstehen, dass die Fänger-Moleküle jeweils mit einer bestimmten Stelle des Fänger-Moleküls, z. B. mit einem Ende des Moleküls, an die Elektro-

15 den gebunden sind. Dadurch kann gewährleistet werden, dass die für das Binden des Analyten verantwortliche Stelle der Fänger-Moleküle durch deren Bindung an die Elektroden nicht beeinflusst wird. Die Fänger-Moleküle können, zumindest teil-

20 weise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an die Elektroden gebunden sein. Diese Zwischenschicht kann aus Silan gebildet sein. Die Zwischenschicht ist elektrochemisch weit gehend inert, wenn sie bei einer elektrochemischen Detektion des Analyten kein Si-

25 gnal verursacht.

Bei einer bevorzugten Ausgestaltung umfasst die Beschichtung mindestens einen semipermeablen Überzug der Elektroden. Die semipermeablen Überzüge können jeweils eine unterschiedliche

30 Durchlässigkeit aufweisen, so dass die Überzüge verschiedener Elektroden unterschiedlich durchlässig sein können. Die Überzüge können selektiv für Moleküle bis zu einer bestimmten Größe durchlässig sein. Es kann sich dabei um eine polymere Matrix mit Molekularsieb-Wirkung handeln. Dadurch ist es mög-

35 lich, nur kleine Moleküle, welche z. B. durch einen spezifi-

5 schen Abbau eines Analyten entstehen, zu den Elektroden durchdringen zu lassen, so dass spezifisch nur diese nachgewiesen werden. Eine solche erfindungsgemäße Vorrichtung kann bei einer Prozesssteuerung zur Verfolgung von in einem Reaktor stattfindenden Umsetzungen eingesetzt werden.

Die elektrischen Leiter können in Durchbrüchen der Platte angeordnet sein, welche sich von der zweiten Seite der Platte her, insbesondere konisch, zur ersten Seite hin verjüngen.
10 Dabei kann der elektrische Leiter nur am verjüngten Abschnitt der durch die sich verjüngende Form des Durchbruchs gebildeten Ausnehmung angeordnet sein. Er kann aber auch frei in die Ausnehmung hinein ragen. Die sich verjüngende Form der Ausnehmung erleichtert die elektrische Kontaktierung von der
15 zweiten Seite her, weil ein zur Kontaktierung in Richtung der Elektrode geführter Leiter auch dann an die Elektrode herangeführt wird, wenn er zunächst nur in die Ausnehmung trifft.

Die Platte kann auf dem Boden einer Mikrofluidkammer angeordnet sein oder den Boden einer Mikrofluidkammer bilden. Die
20 erfindungsgemäße Vorrichtung ist wegen der Möglichkeit der besonders ebenen Ausführung und der damit einher gehenden guten Abdichtbarkeit dazu gut geeignet.

25 Bei der Vorrichtung kann es sich auch um einen Chip handeln. Darunter wird hier eine nicht notwendigerweise aus Halbleitermaterial bestehende kleine Platte mit elektronischen Mikrostrukturen verstanden. Die Elektroden können dabei in Form eines Elektrodenfelds (Array) angeordnet sein.

30 Die Platte kann mehr als 10, vorzugsweise mehr als 20, 40, 80, 100 oder 160, besonders bevorzugt mehr als 1000, insbesondere mehr als 10000, Elektroden pro cm^2 aufweisen. Die Elektroden können zumindest teilweise aus Partikeln gebildet
35 sein. Die Partikel können mit Analyt-spezifischer Beschich-

tung versehen sein oder Analyt-spezifische Moleküle enthalten. Die Partikel können dabei untereinander lose oder fest verbunden sein. Eine lose Verbindung kann z. B. dadurch bereitgestellt werden, dass die Partikel paramagnetisch sind
5 und durch Magnetkraft an der Elektrode bzw. dem elektrischen Leiter gehalten werden.

Weiterhin können die Elektroden, zumindest teilweise, aus einem nichtmetallischen Leiter, insbesondere Kohlenstoff, gebildet sein. Kohlenstoff enthaltende Elektroden sind besonders gut zum Nachweis von Biomolekülen geeignet. Bei den Elektroden kann es sich, zumindest teilweise, um Pencil-, Glassy-Carbon-, Kohlenstofffasern enthaltende, Kohlenstoff-Paste- oder Kunststoff-Komposit-Elektroden, vorzugsweise elementaren Kohlenstoff, insbesondere in Form von Graphit oder Ruß, enthaltende Polycarbonat-Elektroden, handeln. Bei dem Ruß kann es sich um Industrieruß, synthetischen Ruß oder so genanntes "Carbon Black" handeln.
10
15

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Meßvorrichtung, umfassend eine erfindungsgemäße Vorrichtung, bei der die Elektroden mindestens eine Referenz- und mindestens eine Gegenelektrode sowie eine Vielzahl an Arbeitselektroden umfassen. Die Meßvorrichtung enthält Strom-Spannungskonverter, einen Potentiostaten und ein Mittel zum Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme. Die Elektroden sind elektrisch mit dem Potentiostaten zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode verbunden, wobei jeder der Arbeitselektroden einer der Strom-Spannungskonverter nachgeschaltet ist, um sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial zu halten. Dabei ist lediglich ein einziger Potentiostat zur Erzeugung eines an sämtliche Arbeitselektroden gleichzeitig angelegten identischen vorgegebenen Spannungsverlaufs erforderlich. Indem
20
25
30
35 sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial gehalten

werden, ist es beispielsweise möglich, die durch die Arbeits-
elektroden fließenden Ströme parallel zu messen. Dazu kann
jede der Arbeitselektroden über einen Stromfolger zur indivi-
duellen Auswertung der Signale virtuell an der Schaltungs-
5 masse anliegen.

Die Erfindung betrifft darüber hinaus ein Verfahren zur Her-
stellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit folgenden
Schritten:

10

a) Herstellen eines Verbunds von im Wesentlichen parallel
angeordnetem länglichem Elektrodenmaterial und das Elektro-
denmaterial umgebendem Isoliermaterial wobei der Verbund her-
gestellt wird mittels

15

- Umgießen eines festen Elektrodenmaterials mit einem aus-
härtenden Isoliermaterial,

20

- Einführen eines festen Elektrodenmaterials in im Wesent-
lichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche eines festen
Isoliermaterials oder in ein plastisch verformbares Isolier-
material,

25

- Einfüllen von pastösem oder flüssigem aushärtendem Elek-
trodenmaterial in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder
Durchbrüche eines festen einstückigen Isoliermaterials oder
eines gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials mit sich
deckend angeordneten Durchbrüchen,

30

- Verbinden von Elektrodenmaterial, welches eine aus Iso-
liermaterial bestehende Ummantelung aufweist, durch Ver-
schmelzen, Vergießen oder Verkleben der Ummantelung oder

35

- Extrudieren eines Verbunds aus von Isoliermaterial umge-
benem Elektrodenmaterial

und

b) Trennen des Verbunds im Wesentlichen senkrecht zur Längsrichtung des Elektrodenmaterials durch Schneiden, Sägen oder mittels einer Trennscheibe oder durch Auseinandernehmen des gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials.

Bei dem festen Elektrodenmaterial kann es sich beispielsweise um mehrere parallel angeordnete Bleistiftminen handeln, die mit Epoxydharz umgossen werden. Das plastisch verformbare Isoliermaterial kann sich der Form des Elektrodenmaterials beim Einführen anpassen und/oder daran nach dem Einführen durch Zusammenpressen angepasst werden. Dadurch ist ein flüssigkeitsdichter Abschluss gewährleistet. Unter "Aushärten" des Elektrodenmaterials wird hier und im Folgenden verstanden, dass sich das ursprünglich flüssige oder pastöse Elektrodenmaterial mit der Zeit verfestigt, d. h. in seiner Härte zunimmt. Das kann z. B. durch Polymerisieren, durch Trocknen oder durch Abkühlen eines bei höherer Temperatur pastösen Elektrodenmaterials erfolgen. Der Endzustand des Elektrodenmaterials nach dem Verfestigen kann aber immer noch verhältnismäßig weich sein.

Das feste einstückige Isoliermaterial kann durch ein Spritzguss-Verfahren hergestellt werden. Beim Einfüllen des Elektrodenmaterials in das gestapelte plattenförmige Isoliermaterial sind die Durchbrüche so angeordnet, dass Elektrodenmaterial, welches auf einer Seite des gestapelten Isoliermaterials eingefüllt wird, alle Durchbrüche füllt. Das Elektrodenmaterial kann in die Durchbrüche z. B. durch Extrusion hineingepresst werden. Das dazu verwendete Verfahren kann ein aus der Herstellung von Bleistiftminen bekanntes Verfahren sein.

Das Verschmelzen der Ummantelung kann durch Erhitzen oder chemisch, z. B. durch Zusatz eines die Ummantelung anlösenden Lösungsmittels, erfolgen.

- 5 Beim Herstellen des Verbunds mittels Extrudieren des Verbunds aus von Isoliermaterial umgebenem Elektrodenmaterial ist sowohl das leitfähige Elektrodenmaterial als auch das Isoliermaterial plastisch so verformbar, dass beide Materialien gemeinsam als Verbund extrudiert werden können. Das ermöglicht
10 eine sehr kostengünstige Herstellung.

Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit folgenden Schritten:

15

- a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte mit Durchbrüchen,
- b) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials auf eine erste Seite der Platte,
20
- c) Hineindrücken des Elektrodenmaterials in die Durchbrüche und
- 25 d) Entfernen des zwischen den Durchbrüchen vorhandenen Elektrodenmaterials so weit dieses Elektrodenmaterial das in den Durchbrüchen vorhandene Elektrodenmaterial elektrisch leitend verbindet.
- 30 Das Aushärten kann z. B. durch Polymerisieren, durch Trocknen oder durch Abkühlen erfolgen. Schritt lit. c kann gleichzeitig mit dem Aufbringen gemäß Schritt lit. b oder danach durchgeführt werden. Das Verfahren kann in der Art eines Siebdruckverfahren durchgeführt werden, wobei statt der Farbe
35 das Elektrodenmaterial aufgebracht wird.

Die Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit folgenden Schritten:

- 5 a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte mit Durchbrüchen,
- b) Auflegen einer Lochmaske mit den Durchbrüchen, zumindest teilweise, entsprechenden Löchern oder einer Siebdruckmaske
10 mit den Durchbrüchen, zumindest teilweise, entsprechenden durchlässigen Flächen auf die erste Seite der Platte so, dass sich die Löcher oder die Flächen mit den Durchbrüchen der Platte, zumindest teilweise, decken,
- 15 c) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials auf die Lochmaske oder Siebdruckmaske,
- d) Hineindrücken des Elektrodenmaterials über die Löcher oder durchlässigen Flächen in die Durchbrüche und
20 e) Abnehmen der Lochmaske oder Siebdruckmaske von der Platte.

Das Verfahren hat den Vorteil, dass durch Schritt lit. e das
25 Entfernen überschüssigen Elektrodenmaterials deutlich vereinfacht wird und es eine größere Elektrodenoberfläche ermöglicht, weil die Elektroden auf der ersten Seite der Platte, bedingt durch die Höhe der Lochmaske bzw. Siebdruckmaske, erhaben sind. Indem bei derselben Platte durch die Lochmaske
30 bzw. Siebdruckmaske bei wiederholt durchgeführten Schritten lit. b bis lit. e verschiedene Durchbrüche abgedeckt und offen gelassen werden, kann in die Durchbrüche unterschiedliches Elektrodenmaterial hineingedrückt werden. Insbesondere kann das Elektrodenmaterial unterschiedliche Analyt-
35 spezifische Moleküle aufweisen.

Die Erfindung betrifft darüber hinaus ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit folgenden Schritten:

5

a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte,

b) Herstellen von Durchbrüchen in der Platte,

10

c) Herstellen von Vias in den Durchbrüchen zur Herstellung des die Platte durchspannenden elektrischen Leiters und

d) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials auf die Vias auf der ersten Seite der Platte.

15

Die Durchbrüche beim Schritt lit. b können durch Bohren, insbesondere mittels eines Laserstrahls, hergestellt werden.

20

Bei einem Via handelt es sich um eine elektrisch leitfähige Verbindung zwischen zwei Schichten, die hier durch die erste und die zweite Seite der elektrisch nicht leitenden Platte gebildet werden. Der Via wird im Allgemeinen bei einer Platine oder einem integrierten Schaltkreis verwendet. Verfahren zur Herstellung von Vias sind allgemein bekannt. Beim erfindungsgemäßen Verfahren werden die Vias vorzugsweise so hergestellt,

25

dass sie nicht über die durch die erste Seite der Platte gebildete Ebene hinausragen. Die seitliche Ausdehnung der Vias sollte so klein sein, dass dadurch die Form der, bevorzugt im Siebdruckverfahren, auf die Endigungen der Vias

30

auf der ersten Seite aufgetragenen Elektroden nicht beeinflusst wird. Eine solche Beeinflussung ist möglich weil die Vias in ihrem Inneren häufig eine röhrenförmige Öffnung aufweisen. Ist diese Öffnung zu groß, kann auf den Via aufgetragenes pastöses oder flüssiges Elektrodenmaterial in die Öff-

35

nung eindringen und statt diese abzudichten dazu führen, dass

die Platte bzw. die erfindungsgemäße Vorrichtung für Flüssigkeit durchlässig wird. Vorzugsweise haben die Vias an ihrem auf der ersten Seite der Platte gelegenen Ende eine, insbesondere glatte, durchgehende, d. h. keine Öffnung aufweisende, Oberfläche.

Die Vias können beispielsweise aus einer dünnen Kupferschicht bestehen. Vorzugsweise werden die Vias beim Schritt lit. c durch galvanisches Abscheiden in den Durchbrüchen oder durch Einfügen je eines Leiters in die Durchbrüche hergestellt. Das Aufbringen des Elektrodenmaterials kann mittels Tampondruck oder mittels eines siebdruckartigen Verfahrens erfolgen. Beide Techniken sind prinzipiell zur Herstellung von Elektroden bekannt. Sie ermöglichen hier eine besonders kostengünstige und exakte Fertigung der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Beim Tampondruck wird ein pastöses Elektrodenmaterial, welches in einem Muster angeordnet ist, das dem gewünschten Elektrodenmuster entspricht, von einem Tampon aufgenommen. Das Elektrodenmaterial wird dann durch Aufdrücken des Tampons in Form des vorgegebenen Musters auf die elektrisch nicht leitende Platte aufgebracht. Die mittels des siebdruckartigen Verfahrens hergestellten Elektroden werden als "Screen-Print-Elektroden" bezeichnet.

Auf das Elektrodenmaterial kann eine, insbesondere Analyt-spezifische, Beschichtung aufgebracht werden. Es können auch Analyt-spezifische Moleküle in das Elektrodenmaterial eingebracht werden. Beide Vorgänge können vor, nach oder während jedem der genannten Schritte durchgeführt werden. Elektrodenmaterial im Sinne der Erfindung umfasst sowohl das zur Herstellung der Elektroden dienende Material als auch die daraus gebildeten Elektroden. Als Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle können, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle aufgebracht oder in das Elektrodenmaterial eingebracht werden. Auf die Elektroden bzw. das Elektrodenma-

terial können jeweils unterschiedliche Beschichtungen aufgebracht werden. In das Elektrodenmaterial können jeweils unterschiedliche Analyt-spezifische Moleküle eingebracht werden. Als Fänger-Moleküle können insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher verwendet werden. Die Fänger-Moleküle können kovalent und/oder gerichtet an das Elektrodenmaterial gebunden oder auf dem Elektrodenmaterial synthetisiert oder elektrochemisch abgeschieden werden. Bevorzugt werden die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an das Elektrodenmaterial gebunden oder auf der Zwischenschicht synthetisiert. Vorzugsweise wird die Zwischenschicht aus Silan gebildet. Das Elektrodenmaterial kann mit mindestens einem semipermeablen Überzug beschichtet werden. Das kann auch zusätzlich zur Beschichtung mit Fänger-Molekülen erfolgen. Das Elektrodenmaterial bzw. die Elektroden können jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet werden. Jede aus dem Elektrodenmaterial gebildete Elektrode kann einen anderen Überzug aufweisen.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum elektrischen Kontaktieren einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei eine Mehrzahl einzeln ableitbarer elektrischer Leiter mit der zweiten Seite der Platte der Vorrichtung so in Kontakt gebracht werden, dass die Leiter dabei, zumindest teilweise, die Elektroden derart kontaktieren, dass die Elektroden einzeln elektrisch ableitbar sind. Bevorzugt sind die Leiter einfederbar gelagert und werden mit der zweiten Seite der Platte so in Kontakt gebracht, dass sie dabei Einfedern. Dazu kann z. B. eine Kontaktplatte mit Federstiften dienen. Das elektrische Kontaktieren kann auch über einen Elastomer-Verbinder, insbesondere einen ZEBRA®-Elastomer-Verbinder, erfolgen. Elastomer-Verbinder bestehen aus sich abwechselnden

Schichten von elektrisch leitendem und elektrisch nicht leitendem Elastomer, insbesondere Silikon-Elastomer. Die Elastomer-Verbinder können flächig ausgebildet sein, wobei die Schichten senkrecht zu einer Oberfläche verlaufen. Die elektrisch leitende Schicht ist mit leitfähigen Fasern oder Partikeln, z. B. aus Silber, Gold oder Kohlenstoff, versetzt. ZEBRA®-Elastomer-Verbinder werden von der Firma Fujipoly America Corporation, 900 Milik Street P.O. Box 119, Carteret, NJ 07008, USA vertrieben. Durch Anlegen des ZEBRA®-Elastomer-Verbinders an der zweiten Seite der Platte und Ausüben eines leichten Drucks auf die Kontaktfläche zwischen der Platte und dem ZEBRA®-Elastomer-Verbinder kommen die Elektroden mit den leitfähigen Schichten in Kontakt. Die elektrische Ableitung der Elektroden kann durch die Kontaktierung der leitfähigen Schichten mit einer elektrischen Auswerteeinheit erfolgen.

Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Nachweis mindestens eines Analyten in einer Flüssigkeit, wobei die Flüssigkeit mit Elektroden auf der ersten Seite der Platte der Vorrichtung in Kontakt gebracht wird und die Elektroden von deren zweiter Seite her elektrisch kontaktiert werden. Die Flüssigkeit wird dabei vorzugsweise unter Bedingungen mit den Elektroden in Kontakt gebracht, unter denen der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz, z. B. ein Abbauprodukt des Analyten, an an den Elektroden vorhandene Fänger-Moleküle bindet. Der Nachweis des an die Fänger-Moleküle gebundenen Analyten oder der Substanz kann elektrisch, z. B. durch Leitfähigkeitsmessung, elektrochemisch, optisch, photoelektrisch, enzymatisch, mittels Elektrolumineszenz oder mittels Chemilumineszenz erfolgen. Der Nachweis kann auch mittels einer Kombination der genannten Nachweismethoden erfolgen. Beim elektrochemischen Nachweis ist es vorteilhaft, wenn ein direkter Kontakt des Analyten oder der Substanz mit der Elektrode ermöglicht wird. Beim optischen Nachweis kann ein

optisches Signal, wie z. B. Fluoreszenz, an den Elektroden gemessen werden. Die Identifizierung des Analyten oder der Substanz erfolgt dabei beispielsweise dadurch, dass diejenige Elektrode durch optische Detektion identifiziert wird, an
5 welche ein fluoreszierender Analyt oder eine fluoreszierende Substanz spezifisch über die Fänger-Moleküle gebunden ist. Dadurch, dass die Elektrode einem spezifischen Fänger-Molekül zugeordnet werden kann, kann der Analyt oder die Substanz identifiziert werden. Die Elektroden dienen bei diesem Nach-
10 weisverfahren der elektrischen Anziehung und/oder Abstossung von geladenen Analyten oder Substanzen. Durch das Anlegen eines entsprechenden Potentials an eine Elektrode können die geladenen Analyten oder die geladenen Substanzen elektrisch in den Bereich der Fänger-Moleküle transportiert werden.
15 Durch eine erhöhte Konzentration der Analyten oder Substanzen im Bereich der Fänger-Moleküle kann die Bindung der Analyten oder Substanzen daran beschleunigt werden. Nicht oder schwach und unspezifisch gebundene Analyten oder Substanzen können durch das Anlegen eines abstoßenden Potentials an die Elek-
20 trode davon entfernt werden. Dabei ist es vorteilhaft, wenn die Fänger-Moleküle über eine Analyt- oder Substanz-undurchlässige Zwischenschicht an den Elektroden immobilisiert sind. Dadurch wird verhindert, dass der Analyt oder die Substanz bei einem direkten Kontakt mit der Elektrode elektrochemisch
25 umgesetzt wird. Dies ermöglicht das Anlegen von hohen Potentialen für einen schnellen Transport der Analyten oder der Substanzen zu den Fänger-Molekülen.

Die Elektroden können mit einem semipermeablen Überzug beschichtet sein. Dadurch kann es ermöglicht werden, dass selektiv nur die Analyten, Abbauprodukte der Analyten oder die Substanzen nachgewiesen werden, welche den Überzug durchdringen. Der Nachweis kann elektrisch, elektrochemisch, optisch, photoelektrisch, enzymatisch, mittels Elektrolumineszenz oder
35 mittels Chemilumineszenz erfolgen. Er kann auch mittels einer

Kombination dieser Nachweismethoden erfolgen. Vorzugsweise sind die Elektroden jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet.

- 5 Der Analyt kann ein Biomolekül, insbesondere eine Nukleinsäure, ein Protein, ein Antigen, ein Zucker, ein Lipid, eine Zelle oder ein Virus, sein. Er kann eine Markierungssubstanz aufweisen. Bei der Markierungssubstanz kann es sich z. B. um ein Enzym oder um eine redoxaktive Markierung handeln. Bei
10 der Verwendung der Vorrichtung kann eine Redox-Reaktion oder eine katalytische Wasserstoff-Entwicklung elektrochemisch detektiert werden. Das elektrochemische Detektieren kann z. B. mittels Differenzieller Puls-Voltammetrie (DPV), Chronopotentiometrischer Stripping-Analyse (CPSA) oder des Nachweises
15 einer Widerstands- oder Impedanzänderung erfolgen.

Das elektrochemische Detektieren kann folgende Schritte umfassen:

- 20 a) Bereitstellen einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei die Vorrichtung mindestens eine Gegen- und eine Referenzelektrode sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden aufweist,
- b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits-, Gegen- und Referenzelektroden,
25
- c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode und
30
- d) Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial gehalten werden.

Zum elektrochemischen Detektieren wird vorzugsweise ein Potenzialintervall zur Messung gewählt, in welchem im Wesentlichen nur der Analyt oder die Substanz ein Signal verursacht.

5 Bevorzugt werden die, insbesondere Kohlenstoff enthaltenden, Elektroden vor dem Nachweisen des Analyten mit einem Detergenz behandelt. Das kann bevor oder während die den Analyten enthaltende Flüssigkeit mit den Elektroden in Kontakt steht erfolgen. Die Behandlung mit Detergenz kann eine elektroche-
10 mische Konditionierung ersetzen. Sie ist einfacher, schneller und kostengünstiger als eine elektrochemische Konditionierung. Die Elektroden können in einer Detergenz enthaltenden Flüssigkeit aufbewahrt und darin z. B. vertrieben werden. Vorzugsweise ist das Detergenz ein ionisches Detergenz. Günstigerweise liegt das Detergenz in einer Konzentration von
15 0,1 % bis 10 % vor. Bevorzugt weist das Detergenz in Wasser eine kritische mizellare Konzentration unter 10 mmol/l, insbesondere unter 5 mmol/l, vorzugsweise unter 3 mmol/l, auf. Das Detergenz kann Natriumdodezylsulfat sein.

20 Ausführungsbeispiele der Erfindung werden anhand der Zeichnung näher erläutert. Hierin zeigen:

25 Fig. 1a - e eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung der erfindungsgemäßen Vorrichtung,

30 Fig. 2a - b eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mittels Durchtrennen eines Verbunds aus Elektrodenmaterial und Isoliermaterial,

Fig. 3a - d eine schematische Darstellung eines Verfahrens zum Herstellen eines Verbunds aus parallel an-

geordnetem länglichem Elektrodenmaterial und Isoliermaterial,

- 5 Fig. 4a - d eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion mittels Extrusion und Durchtrennen eines dadurch hergestellten Verbunds,
- 10 Fig. 5a - c eine Grundplatte zur Herstellung einer Vorrichtung zur Detektion,
- 15 Fig. 6a - d eine schematische Darstellung eines siebdruckartigen Verfahrens zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung,
- 20 Fig. 7a - b eine schematische Darstellung eines Verfahrens und einer Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion,
- 25 Fig. 8a - b eine schematische Darstellung eines Verfahrens zur Herstellung eines Chips mit 4x4 Elektroden,
- 30 Fig. 9 eine Abbildung des Chips,
- 30 Fig. 10 das Ergebnis zweier parallel mit dem Chip durchgeführter DPV-Messungen von Heringssperma-DNA und
- 35 Fig. 11a - c eine schematische Darstellung einer Mikrofluidkammer mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Detektion.

Fig. 1a zeigt einen plastisch verformbaren elektrisch isolierenden Grundkörper 10 mit einer ersten Seite 12 und einer zweiten Seite 14. Fig. 1b zeigt vier aus Bleistiftminen gebildete Elektroden 15. In Fig. 1c ist der Grundkörper 10 mit
5 darin durch mechanischen Druck eingeführten Elektroden 15 dargestellt. Das Einführen der Elektroden erfolgt dabei derart, dass jede Elektrode auf der ersten Seite 12 und der zweiten Seite 14 herausragt. Nach dem Einführen der Elektroden 15 kann der Grundkörper 10 ausgehärtet werden. Fig. 1d
10 zeigt die entstandene Vorrichtung zur Detektion 17 in der Aufsicht, Fig. 1e in der Seitenansicht. Die Vorrichtung 17 kann, wie in Fig. 2a dargestellt, senkrecht entlang der Linien 16 mehrfach durchtrennt und dadurch in die in Fig. 2b dargestellten scheibenförmigen erfindungsgemäßen Vorrichtungen
15 17 zerlegt werden. Jede der Elektroden 15 besitzt dabei Kontakt zur jeweiligen Ober- und Unterseite der Scheiben.

Eine Elektrode 15 mit einer aus Isoliermaterial bestehenden Ummantelung 18 ist in Fig. 3a im Querschnitt und in Fig. 3b
20 in der Aufsicht dargestellt. Fig. 3c und Fig. 3d zeigen einen durch Verbinden der Ummantelungen 18 entstandenen Verbund solcher Elektroden im Querschnitt und in der Aufsicht. Die Pfeile 20 zeigen Positionen an, an denen der Verbund durchtrennt werden kann, um daraus scheibenförmige erfindungsgemäße
25 Vorrichtungen 17 herzustellen.

Fig. 4a zeigt einen elektrisch isolierenden Grundkörper 10 mit vier parallelen ersten Durchbrüchen 22. Der Grundkörper 10 kann beispielsweise aus einem Kunststoff bestehen und
30 durch ein Spritzguss-Verfahren hergestellt sein. In die ersten Durchbrüche 22 des Grundkörpers 10 kann eine Masse aus einem elektrisch leitfähigen Elektrodenmaterial 15 eingepresst werden. Das kann beispielsweise durch ein Extrusionsverfahren erfolgen, wie es üblicherweise zur Herstellung von
35 Bleistiftminen verwendet wird. Bei dem Elektrodenmaterial 15

kann es sich um ein Material zur Herstellung von Bleistiftminen handeln. Der Grundkörper 10 kann, auch schon vor einer Aushärtung des Elektrodenmaterials 15, an den durch die Pfeile 20 angedeuteten Stellen senkrecht zu den mit Elektrodenmaterial 15 verfüllten ersten Durchbrüchen 22 durchtrennt werden. Dadurch entstehen die in Fig. 4c perspektivisch und in Fig. 4d in der Aufsicht dargestellten scheibenförmigen erfindungsgemäßen Vorrichtungen 17. Alternativ zu dem mechanischen Durchtrennen des Verbunds aus Elektrodenmaterial 15 und Grundkörper 10 kann ein Stapel scheibenförmiger Grundkörper 10 mit ersten Durchbrüchen so übereinander gestapelt werden, dass sich die ersten Durchbrüche 22 decken. Beim Einfüllen des Elektrodenmaterials 15 an einem Ende des Stapels werden dann sämtliche der ersten Durchbrüche 22 der scheibenförmigen Grundkörper 10 gefüllt. Danach kann der Stapel noch vor einem Aushärten des Elektrodenmaterials auseinandergenommen werden.

Fig. 5c zeigt einen plattenförmigen Grundkörper 10 mit einer ersten Seite 12 und einer zweiten Seite 14 im Querschnitt. Fig. 5b zeigt diesen Grundkörper 10 in der Aufsicht von der zweiten Seite 14 und Fig. 5a in der Aufsicht von der ersten Seite 12. Der Grundkörper 10 weist konische sich von der ersten Seite 12 zu der zweiten Seite 14 erweiternde Durchbrüche 22 auf. In Fig. 6a ist der plattenförmige Grundkörper 10 auf der ersten Seite 12 mit einer Lochmaske 24 belegt, welche Löcher 26 aufweist, die sich mit den Durchbrüchen 22 auf der ersten Seite 12 decken. Fig. 6b zeigt auf die Lochmaske 24 aufgebrachtes elektrisch leitfähiges pastöses Elektrodenmaterial 15. Fig. 6c zeigt das Elektrodenmaterial 15 nachdem es in einem siebdruckartigen Verfahren in die Löcher 26 und die Durchbrüche 22 hinein gepresst worden ist. In Fig. 6d ist die erfindungsgemäße Vorrichtung 17 nach Entfernen der Lochmaske 24 dargestellt.

Fig. 7a und 7b zeigen eine Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren 36 einer Vorrichtung zur Detektion 17. Die Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren 36 besteht dabei aus einer elastischen Matrix 28 aus einem elektrisch isolierenden Material. In dieser Matrix 28 sind parallel elektrisch leitfähige Stifte 30 angeordnet, welche elektrisch mit Kontakten 34 auf der Unterseite der Matrix verbunden sind. Die Stifte werden durch eine Feder 32 aus der elastischen Matrix herausgedrückt. Bevorzugt sind die Stifte 30 an der zur Kontaktierung vorgesehenen Seite spitz zulaufend. Das in Fig. 7b dargestellte Kontaktieren der Vorrichtung zur Detektion 17 durch die Vorrichtung zum elektrischen Kontaktieren 36 erfolgt durch Aneinanderdrücken der beiden Vorrichtungen 17, 36. Dabei kommen die Stifte 30 mit den Elektroden 15 in Kontakt. Die elastische Matrix 28 wird dabei gestaucht. Dadurch können die Stifte 30 in die sich zur ersten Seite 12 hin verjüngenden Durchbrüche 22 der Vorrichtung 17 zum Detektieren eindringen und dabei die Elektroden 15 kontaktieren. Durch die spitz zulaufende Form der Stifte 30, die sich verjüngenden Durchbrüche 22 und die Form der Elektroden 15 wird eine vergrößerte Kontaktfläche der Stifte 30 mit den Elektroden 15 bereitgestellt.

Eine Anordnung von Verschaltungen 39 und einer Elektrodenhalterung 40 zum Umgießen der Elektroden 15 mit einem isolierenden Material, wie beispielsweise Epoxydharz, ist in Fig. 8a vor und in Fig. 8b nach dem Zusammenbau schematisch dargestellt. Eine der Verschaltungen 39 weist eine Öffnung 41 zum Einfüllen des isolierenden Materials auf. Der durch die Polymerisation des Isoliermaterials entstehende Verbund aus Elektroden und Isoliermaterial kann durchtrennt werden, so dass scheibenförmige Vorrichtungen 17 zur Detektion als Chips mit 4 x 4 Elektroden entstehen. Eine solche Vorrichtung 17 ist in Fig. 9 gezeigt. Dabei dienen Bleistiftminen als Elektrodenmaterial. Die Elektroden eines der Chips sind elektrochemisch

für 1 min mit 1,2 V in 0,1 M Natriumacetat-Puffer, pH 4,6 behandelt bzw. konditioniert worden. Die Elektroden eines anderen der Chips sind für 1 min mit 10% SDS behandelt worden. Zur Silanisierung der Elektroden wurden die Chips für 1 h bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln in einer Lösung aus 1% (v/v) 3-(Glycidyloxypropyl)-trimethoxysilan (Fa. Fluka), 1% (v/v) entionisiertem Wasser (Fa. Millipore) und 98% (v/v) Ethanol (Fa. Merck) inkubiert. Anschließend wurden sie für 30 min bei 80 °C getrocknet.

Das Oligonukleotids TNF2 mit der Sequenz 5' cct icc cca atc cct tta tt 3' - Aminolink (SEQ ID NO: 1 - Aminolink), wobei i einen Inosin-Rest darstellt, wurde als Fänger-Molekül an die silanisierten Elektroden gekoppelt. Bei dem Oligonukleotid handelt es sich um eine mit einem Aminolink versehene Sequenz aus der c-DNA des humanen Tumor Nekrose Faktor α -Gens. Zur Kopplung wurde je ein Tropfen einer 150 pmol/ml Oligonukleotid in 0,1 M Na₂CO₃, pH 9,5 enthaltenden Lösung auf jede der Elektroden der Chips gesetzt. Die Chips wurden dann für eine Stunde bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Dabei gehen die freien Aminogruppen der Oligonukleotide mit dem Silan eine kovalente Bindung ein. Zur Abtrennung nicht kovalent gebundener Oligonukleotide wurden die Chips für eine Stunde in 2 ml 10% SDS bei RT inkubiert. Zur Absättigung noch vorhandener Bindungsstellen wurden die Chips eine Stunde bei RT in 1% Rinder-Serum-Albumin (BSA) oder Ethanolamin in Phosphat-gepufferter-Saline (PBS) inkubiert.

Um den Einfluss einer Elektrodenbehandlung auf die Sensitivität und Reproduzierbarkeit der elektrochemischen Nukleinsäuredetektion zu untersuchen, sind die Chips in einer Lösung von 10 nmol/ml der komplementären Nukleinsäure TNF2k (SEQ ID NO: 2) in Detergenz-haltigem Hybridisierungs-Puffer (Fa. Roche) inkubiert und die gebundene Nukleinsäure TNF2k mittels DPV bestimmt worden. Jeweils zehn Messungen wurden mit den

- elektrochemisch bzw. mit Detergenz behandelten Elektroden durchgeführt. Die Detergenz-Behandlung führte zu einer Sensitivitätssteigerung von mehr als 10% gegenüber der elektrochemischen Behandlung. Weiterhin war die Reproduzierbarkeit der Messungen mit Detergenz-behandelten Elektroden verbessert. Die Standardabweichung der Messungen Detergenz-behandelter Elektroden war um Faktor 3 geringer als bei einer elektrochemischen Behandlung.
- Fig. 10 zeigt zwei Voltammogramme, welche mittels parallel mit der in Fig. 9 gezeigten Vorrichtung 17 durchgeführten DPV-Messungen von Heringssperma-DNA ermittelt worden sind. Dazu wurde das Elektrodenmaterial der Vorrichtung 17 von dessen zweiter Seite mittels Federkontaktstiften mit einer elektronischen Auswerteeinheit verbunden. Eine der Elektroden ist als Referenzelektrode geschaltet worden. Auf die erste Seite der Vorrichtung wurden 100 μ l einer 2 μ g/ μ l Heringssperma-DNA-Lösung in TE-Puffer (10 mM TrisCl, 1 mM EDTA, pH 8) aufgebracht und für 10 min inkubiert. Die DNA wurde parallel an mehreren Elektroden mittels DPV anhand der Oxidation von Guanin und Adenin nachgewiesen. Dabei sind in ihrer Position deckungsgleiche signifikante Guanin- und Adenin-Oxidations-Peaks gemessen worden.
- Fig. 11a zeigt schematisch eine Aufsicht auf eine zusammengesetzte Mikrofluidkammer 42 mit einer Vielzahl von Elektroden 15 und der Ausnehmung 46 für den Flüssigkeitsdurchtritt. Fig. 11b zeigt eine Aufsicht auf den Oberteil 44 der Mikrofluidkammer 42 und Fig. 11c auf den durch die erfindungsgemäße Vorrichtung 17 gebildeten Unterteil dieser Kammer.

Patentansprüche

1. Vorrichtung (17) zur Detektion eines Analyten in einer Flüssigkeit mit einer Vielzahl von auf einer ersten Seite
5 (12) einer elektrisch nicht leitenden und für die Flüssigkeit undurchlässigen Platte (10) angeordneten voneinander isolierten Elektroden (15), wobei die Elektroden (15) zumindest teilweise eine Analyt-spezifische Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle aufweisen und über die Platte (10)
10 durchspannende elektrische Leiter von einer zweiten Seite (14) der Platte her elektrisch kontaktierbar und einzeln ableitbar sind, wobei die Beschichtung oder die Moleküle Analyt-spezifisch ist/sind, indem sie eine spezifische Affinität für den Analyten oder eine infolge der Anwesenheit des Analy-
15 ten gebildete Substanz aufweist/aufweisen und wobei die Vorrichtung keine Ableitungen aufweist.
2. Vorrichtung (17) nach Anspruch 1, wobei die elektrischen
20 Leiter zusammen mit den Elektroden (15) einstückig ausgebildet sind.
3. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle an den Elektroden (15) jeweils unterschiedlich ist/sind.
25
4. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung oder die Analyt-spezifischen Moleküle, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle umfas-
30 sen.
5. Vorrichtung (17) nach Anspruch 4, wobei die Fänger-Moleküle, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher sind.
35

6. Vorrichtung (17) nach Anspruch 4 oder 5, wobei die Fänger-Moleküle kovalent und/oder gerichtet an die Elektroden (15) gebunden sind.

5 7. Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 4 bis 6, wobei die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an die Elektroden (15) gebunden sind.

10 8. Vorrichtung (17) nach Anspruch 7, wobei die Zwischenschicht aus Silan gebildet ist.

9. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Beschichtung mindestens einen semipermeablen Überzug der Elektroden (15) umfasst.

10. Vorrichtung (17) nach Anspruch 9, wobei die semipermeablen Überzüge jeweils eine unterschiedliche Durchlässigkeit aufweisen.

20 11. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die elektrischen Leiter in Durchbrüche (22) der Platte (10) angeordnet sind, welche sich von der zweiten Seite (14) der Platte (10) her, insbesondere konisch, zur ersten Seite (12) hin verjüngen.

12. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) auf dem Boden einer Mikrofluidkammer (42) angeordnet ist oder den Boden einer Mikrofluidkammer bildet.

30 13. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) ein Chip ist.

14. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Platte (10) mehr als 10, vorzugsweise mehr als 20, 40, 80, 100 oder 160, besonders bevorzugt mehr als 1000, insbesondere mehr als 10000, Elektroden pro cm^2 aufweist.

5

15. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, aus Partikeln gebildet sind.

10 16. Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, aus einem nichtmetallischen Leiter, insbesondere Kohlenstoff, gebildet sind.

15 17. Vorrichtung (17) nach Anspruch 16, wobei die Elektroden (15), zumindest teilweise, Pencil-, Glassy-Carbon-, Kohlenstofffasern enthaltende, Kohlenstoff-Paste- oder Kunststoff-Composit-Elektroden, vorzugsweise elementaren Kohlenstoff, insbesondere in Form von Grafit oder Ruß, enthaltende Poly-
20 carbonat-Elektroden, sind.

18. Meßvorrichtung, umfassend eine Vorrichtung (17) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Elektroden (15) mindestens eine Referenz- und mindestens eine Gegenelektrode
25 sowie eine Vielzahl an Arbeitselektroden umfassen, wobei die Meßvorrichtung Strom-Spannungskonverter, einen Potentiostaten und ein Mittel zum Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme enthält und wobei die Elektroden (15) elektrisch mit dem Potentiostaten zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode verbunden sind, wobei jeder der Arbeitselektroden einer der Strom-Spannungskonverter nachgeschaltet ist, um sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial zu halten.
30

35

19. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 17 mit folgenden Schritten:

a) Herstellen eines Verbunds von im Wesentlichen parallel angeordnetem länglichem Elektrodenmaterial (15) und das Elektrodenmaterial (15) umgebendem Isoliermaterial wobei der Verbund hergestellt wird mittels

- Umgießen eines festen Elektrodenmaterials (15) mit einem aushärtenden Isoliermaterial,

- Einführen eines festen Elektrodenmaterials (15) in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche (22) eines festen Isoliermaterials oder in ein plastisch verformbares Isoliermaterial,

- Einfüllen von pastösem oder flüssigem aushärtendem Elektrodenmaterial (15) in im Wesentlichen parallele Ausnehmungen oder Durchbrüche (22) eines festen einstückigen Isoliermaterials oder eines gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials mit sich deckend angeordneten Durchbrüchen (22),

- Verbinden von Elektrodenmaterial (15), welches eine aus Isoliermaterial bestehende Ummantelung (18) aufweist, durch Verschmelzen, Vergießen oder Verkleben der Ummantelung (18) oder

- Extrudieren eines Verbunds aus von Isoliermaterial (18) umgebenem Elektrodenmaterial (15)
und

b) Trennen des Verbunds im Wesentlichen senkrecht zur Längsrichtung des Elektrodenmaterials (15) durch Schneiden, Sägen oder mittels einer Trennscheibe oder durch Auseinandernehmen des gestapelten plattenförmigen Isoliermaterials.

20. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 17 mit folgenden Schritten:

- 5 a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte (10) mit Durchbrüchen (22),
- b) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials (15) auf eine erste Seite (12) der Platte (10),
- 10 c) Hineindrücken des Elektrodenmaterials (15) in die Durchbrüche (22) und
- d) Entfernen des zwischen den Durchbrüchen (22) vorhandenen
- 15 Elektrodenmaterials (15) so weit dieses Elektrodenmaterial (15) das in den Durchbrüchen vorhandene Elektrodenmaterial (15) elektrisch leitend verbindet.

21. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 17 mit folgenden Schritten:

- a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte (10) mit Durchbrüchen (22),
- 25 b) Auflegen einer Lochmaske (24) mit den Durchbrüchen (22), zumindest teilweise, entsprechenden Löchern (26) oder einer Siebdruckmaske mit den Durchbrüchen, zumindest teilweise, entsprechenden durchlässigen Flächen auf die erste Seite (12) der Platte (10) so, dass sich die Löcher (26) oder die Flächen
- 30 chen mit den Durchbrüchen (22) der Platte (10), zumindest teilweise, decken,
- c) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials (15) auf die Lochmaske (24) oder Siebdruckmaske,

d) Hineindrücken des Elektrodenmaterials (15) über die Löcher oder durchlässigen Flächen in die Durchbrüche (22) und

5 e) Abnehmen der Lochmaske (24) oder Siebdruckmaske von der Platte (10).

22. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 17 mit folgenden Schritten:

10 a) Bereitstellen einer elektrisch nicht leitenden Platte (10),

b) Herstellen von Durchbrüchen in der Platte (10),

15 c) Herstellen von Vias in den Durchbrüchen zur Herstellung des die Platte (10) durchspannenden elektrischen Leiters und

20 d) Aufbringen eines pastösen aushärtenden Elektrodenmaterials (15) auf die Vias auf der ersten Seite (12) der Platte (10).

23. Verfahren nach Anspruch 22, wobei die Durchbrüche beim Schritt lit. b durch Bohren, insbesondere mittels eines Laserstrahls, hergestellt werden.

25

24. Verfahren nach Anspruch 22 oder 23, wobei die Vias beim Schritt lit. c durch galvanisches Abscheiden in den Durchbrüchen oder durch Einführen je eines Leiters in die Durchbrüche hergestellt werden.

30

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 22 bis 24, wobei das Aufbringen des Elektrodenmaterials mittels Tampondruck oder eines siebdruckartigen Verfahrens erfolgt.

26. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 25, wobei auf das Elektrodenmaterial (15) eine Analyt-spezifische Beschichtung aufgebracht wird oder Analyt-spezifische Moleküle in das Elektrodenmaterial (15) eingebracht werden.

5

27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei als Beschichtung oder Analyt-spezifische Moleküle, insbesondere elektrochemisch inerte, Fänger-Moleküle aufgebracht oder eingebracht werden.

10

28. Verfahren nach Anspruch 26 oder 27, wobei auf das Elektrodenmaterial (15) jeweils unterschiedliche Beschichtungen aufgebracht oder in das Elektrodenmaterial (15) jeweils unterschiedliche Analyt-spezifische Moleküle eingebracht werden.

15

29. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 bis 28, wobei als Fänger-Moleküle, insbesondere einzelsträngige, Nukleinsäuren, Nukleinsäure-Analoga, Liganden, Haptene, Peptide, Proteine, Zucker, Lipide oder Ionenaustauscher verwendet werden.

20

30. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 bis 29, wobei die Fänger-Moleküle kovalent und/oder gerichtet an das Elektrodenmaterial (15) gebunden oder auf dem Elektrodenmaterial (15) synthetisiert oder elektrochemisch abgeschieden werden.

25

31. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 bis 30, wobei die Fänger-Moleküle, zumindest teilweise, über eine, insbesondere elektrochemisch weit gehend inerte, Zwischenschicht an das Elektrodenmaterial (15) gebunden oder auf der Zwischenschicht synthetisiert werden.

30

32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei die Zwischenschicht aus Silan gebildet wird.

33. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 32, wobei das Elektrodenmaterial (15) mit mindestens einem semipermeablen Überzug beschichtet wird.

5

34. Verfahren nach Anspruch 33, wobei das Elektrodenmaterial (15) jeweils mit unterschiedlich durchlässigen semipermeablen Überzügen beschichtet wird.

10 35. Verfahren zum elektrischen Kontaktieren einer Vorrichtung (17) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 17, wobei eine Mehrzahl einzeln ableitbarer elektrischer Leiter (30) mit der zweiten Seite (14) der Platte (10) der Vorrichtung (17) so in Kontakt
15 gebracht werden, dass die Leiter (30) dabei, zumindest teilweise, die Elektroden (15) so kontaktieren, dass die Elektroden (15) einzeln elektrisch ableitbar sind.

36. Verfahren nach Anspruch 35, wobei die Leiter (30) einfe-
20 derbar gelagert sind und mit der zweiten Seite (14) der Platte (10) so in Kontakt gebracht werden, dass sie dabei einfe-
dern.

37. Verfahren nach Anspruch 35, wobei das elektrische Kontak-
tieren über einen Elastomer-Verbinder, insbesondere einen ZE-
25 BRA®-Elastomer-Verbinder, erfolgt.

38. Verwendung einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprü-
che 1 bis 17 zum Nachweis mindestens eines Analyten in einer
Flüssigkeit, wobei die Flüssigkeit mit Elektroden (15) auf
30 der ersten Seite (12) der Platte (10) der Vorrichtung (17) in
Kontakt gebracht wird und die Elektroden (15) von deren zwei-
ter Seite (14) her elektrisch kontaktiert werden.

39. Verwendung nach Anspruch 38, wobei die Flüssigkeit unter
35 Bedingungen mit den Elektroden (15) in Kontakt gebracht wird,

unter denen der Analyt oder eine infolge der Anwesenheit des Analyten gebildete Substanz an an den Elektroden (15) vorhandene Fänger-Moleküle bindet und der an die Fänger-Moleküle gebundene Analyt oder die daran gebundene Substanz elektrisch, elektrochemisch, optisch, photoelektrisch, enzymatisch, mittels Elektrolumineszenz oder mittels Chemilumineszenz oder mittels einer Kombination davon nachgewiesen wird.

40. Verwendung nach Anspruch 38 oder 39, wobei mindestens eine Elektrode (15) mit einem semipermeablen Überzug beschichtet ist und selektiv nur solche Analyten, Abbauprodukte von Analyten oder Substanzen elektrisch, elektrochemisch, optisch, photoelektrisch, enzymatisch, mittels Elektrolumineszenz oder mittels Chemilumineszenz oder mittels einer Kombination davon nachgewiesen werden, welche den Überzug durchdringen.

41. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 40, wobei der Analyt ein Biomolekül, insbesondere eine Nukleinsäure, ein Protein, ein Antigen, ein Zucker, ein Lipid, eine Zelle oder ein Virus, ist.

42. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 41, wobei der Analyt eine Markierungssubstanz aufweist.

43. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 42, wobei eine Redox-Reaktion oder eine katalytische Wasserstoffentwicklung elektrochemisch detektiert wird.

44. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 43, wobei das elektrochemische Detektieren mittels Differenzieller Puls-Voltammetrie (DPV), Chronopotentiometrischer Stripping Analyse (CPSA) oder des Nachweises einer Widerstands- oder Impedanzänderung erfolgt.

45. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 44, wobei das elektrochemische Detektieren folgende Schritte umfasst:

5 a) Bereitstellen einer Vorrichtung (17) nach einem der Ansprüche 1 bis 17, wobei die Vorrichtung (17) mindestens eine Gegen- und eine Referenzelektrode sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden aufweist,

10 b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits-, Gegen- und Referenzelektroden,

c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode und

15

d) Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial gehalten werden.

20 46. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 45, wobei zum elektrochemischen Detektieren ein Potenzialintervall zur Messung gewählt wird, in welchem im Wesentlichen nur der Analyt oder die Substanz ein Signal verursacht.

25 47. Verwendung nach einem der Ansprüche 38 bis 46, wobei die, insbesondere Kohlenstoff enthaltenden, Elektroden (15) vor dem Nachweisen des Analyten mit einem Detergenz behandelt werden.

30 48. Verwendung nach Anspruch 47, wobei das Detergenz ein ionisches Detergenz ist.

49. Verwendung nach Anspruch 47 oder 48, wobei das Detergenz in einer Konzentration von 0,1% w/v bis 10% w/v vorliegt.

35

50. Verwendung nach einem der Ansprüche 47 bis 49, wobei das Detergenz in Wasser eine kritische mizellare Konzentration unter 10 mmol/l, insbesondere unter 5 mmol/l, vorzugsweise unter 3 mmol/l, aufweist.

5

51. Verwendung nach einem der Ansprüche 47 bis 50, wobei das Detergenz Natriumdodezylsulfat ist.

1/11

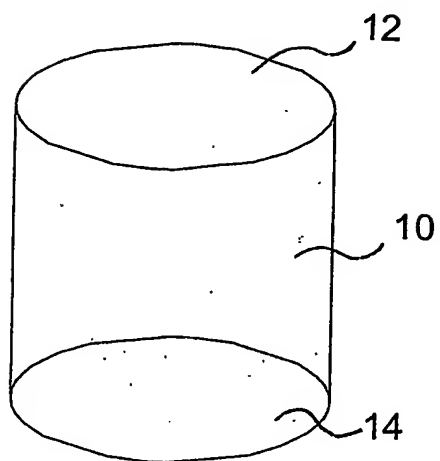


Fig. 1a

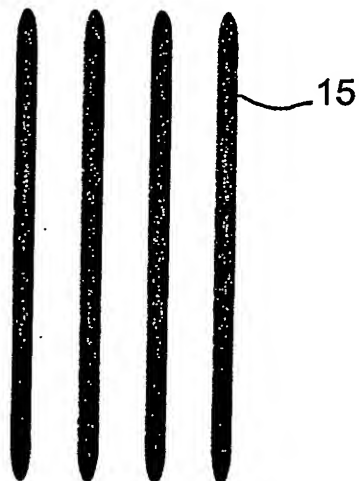


Fig. 1b

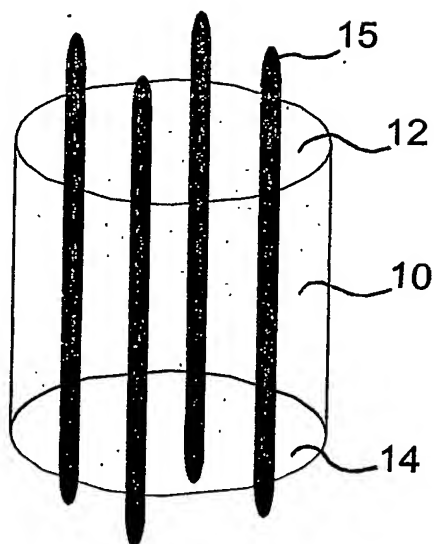


Fig. 1c

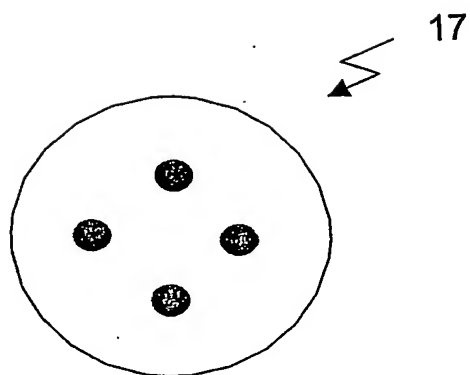


Fig. 1d

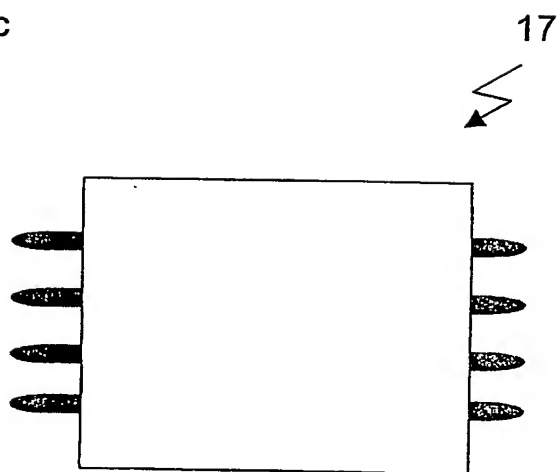


Fig. 1e

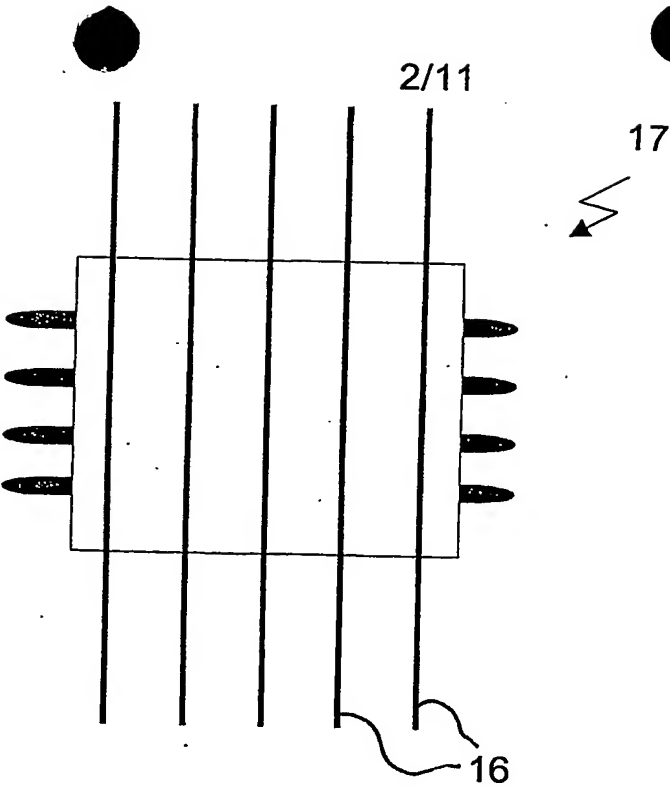


Fig. 2a

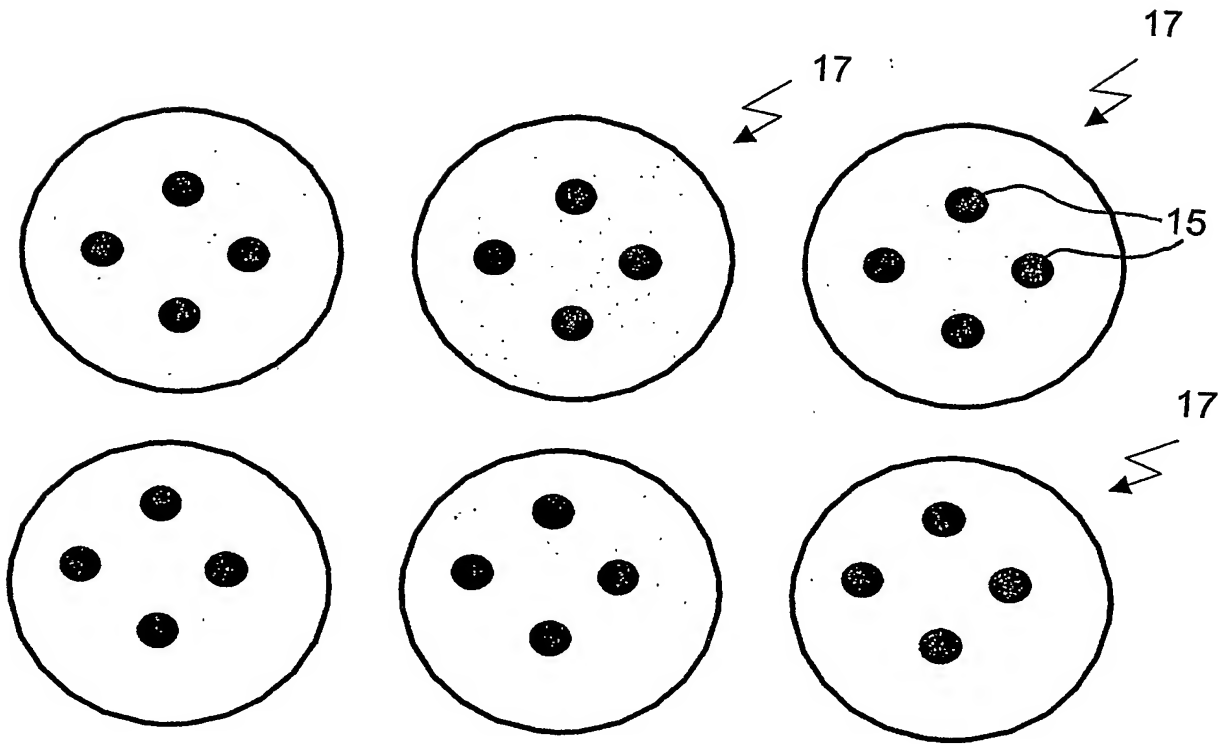


Fig. 2b

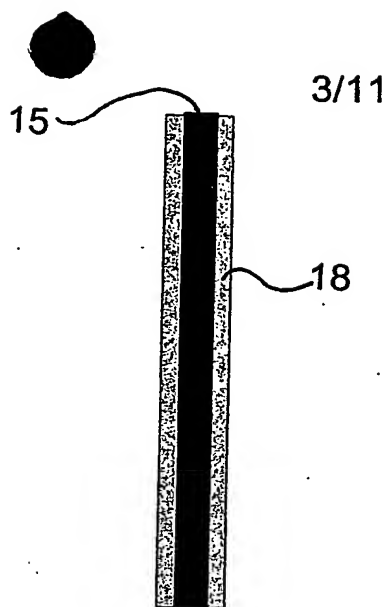


Fig. 3a

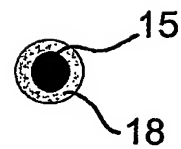


Fig. 3b

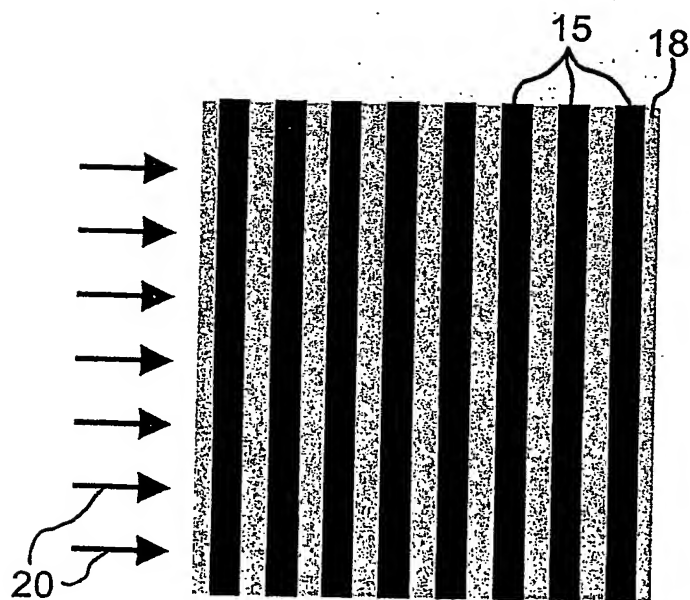


Fig. 3c

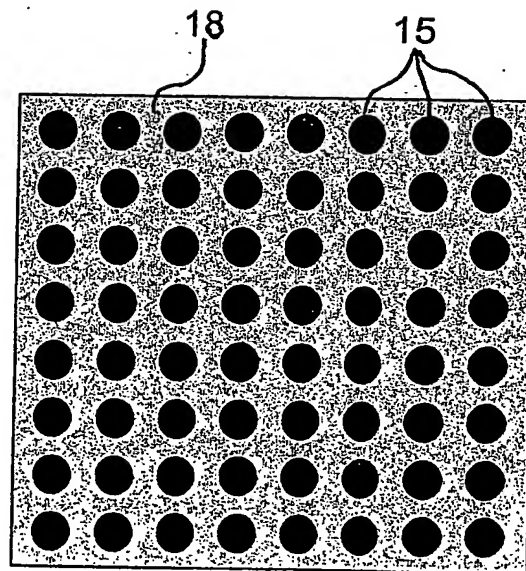


Fig. 3d

4/11

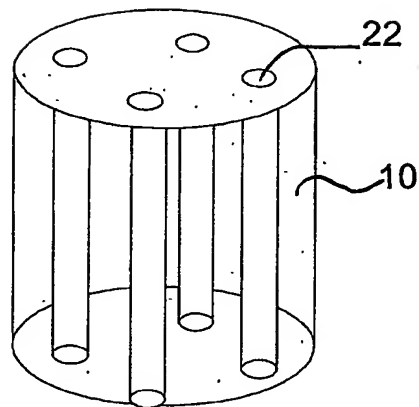


Fig. 4a

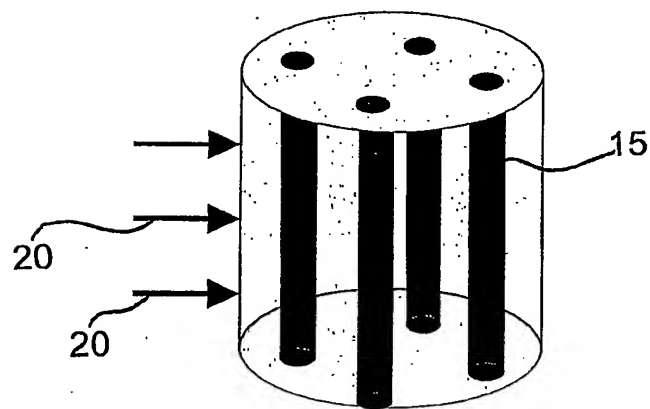


Fig. 4b

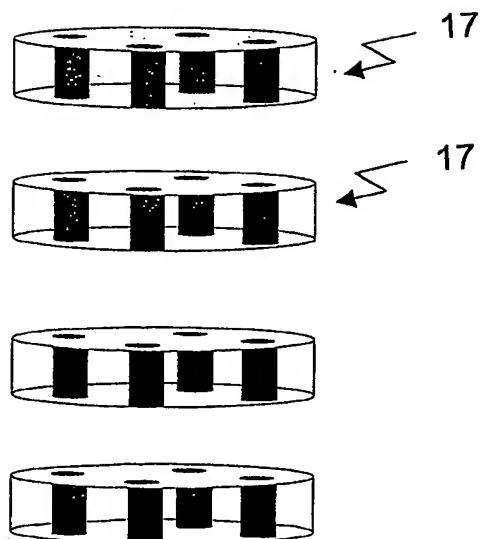


Fig. 4c

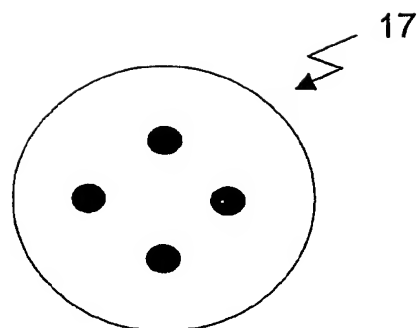


Fig. 4d

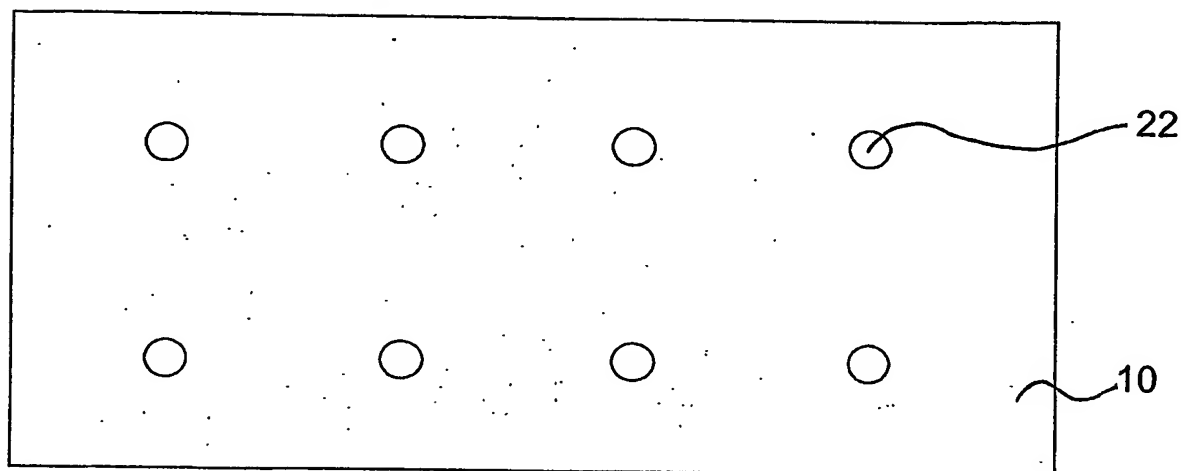


Fig. 5a

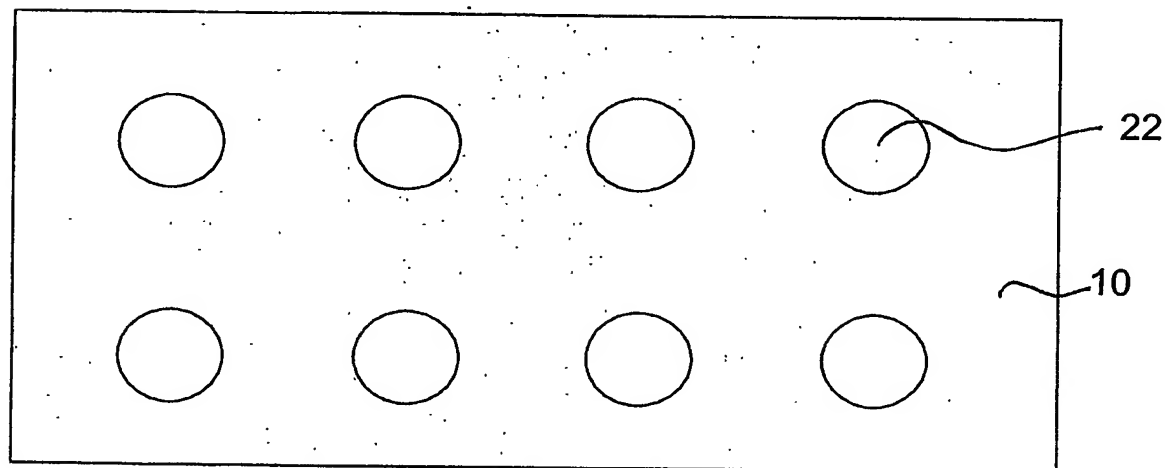


Fig. 5b

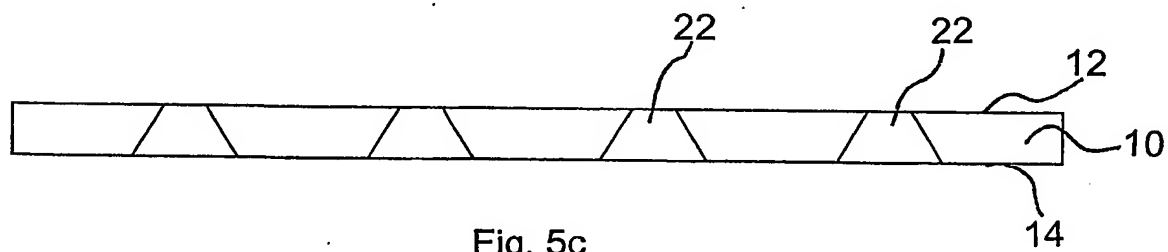


Fig. 5c

6/11

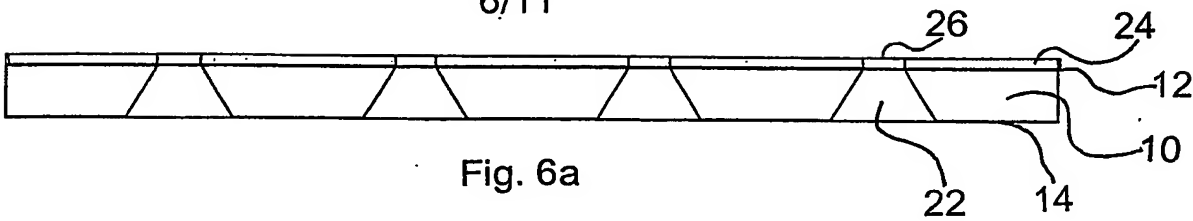


Fig. 6a

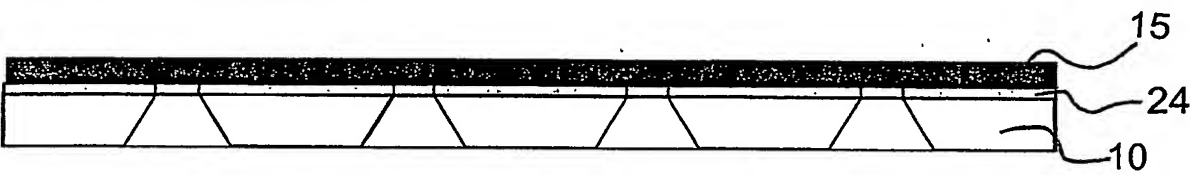


Fig. 6b

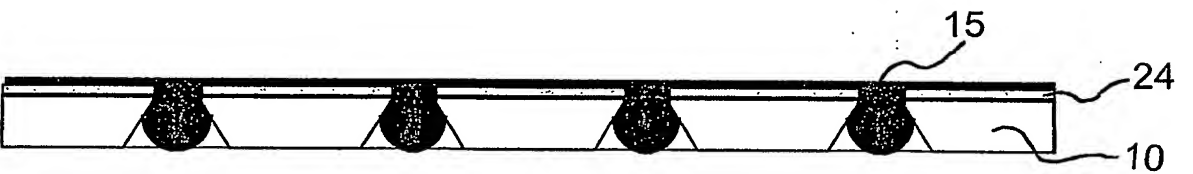


Fig. 6c

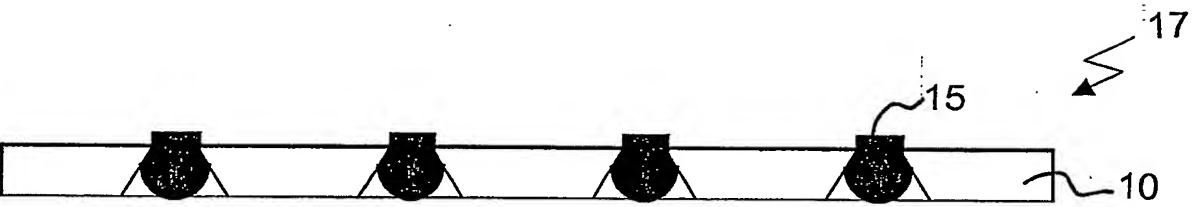


Fig. 6d

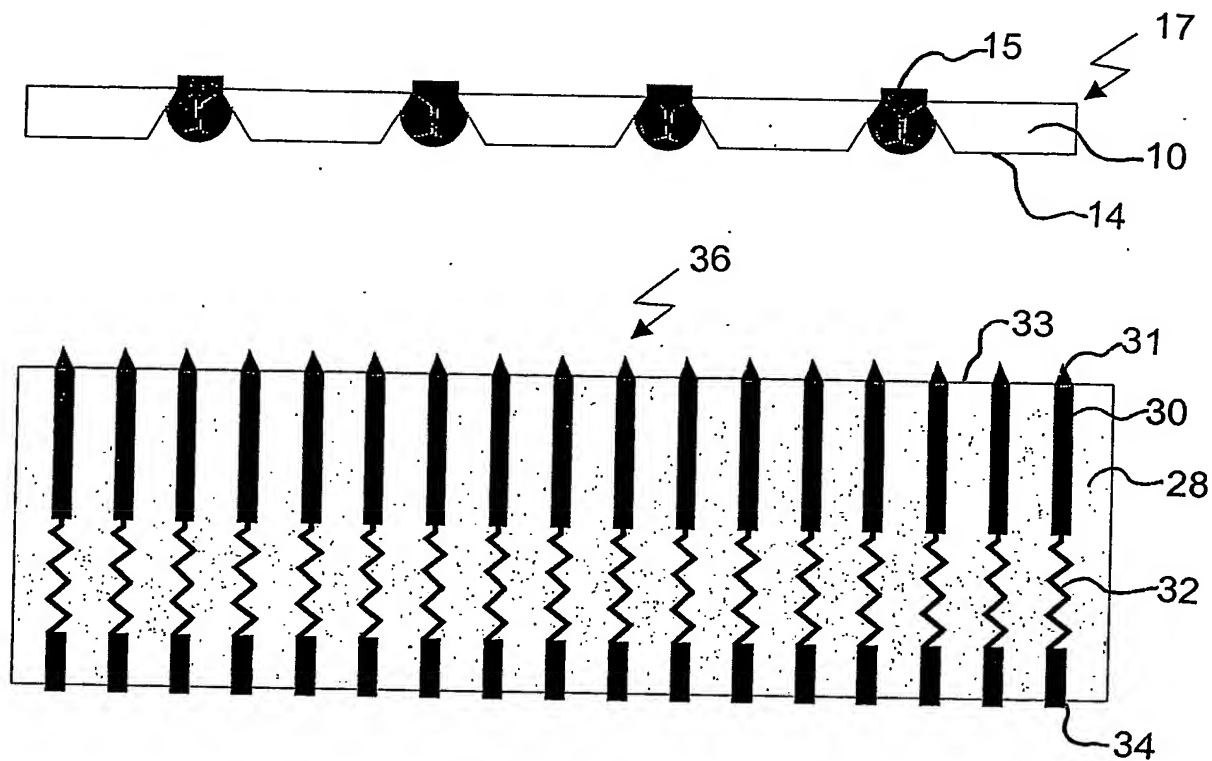


Fig. 7a

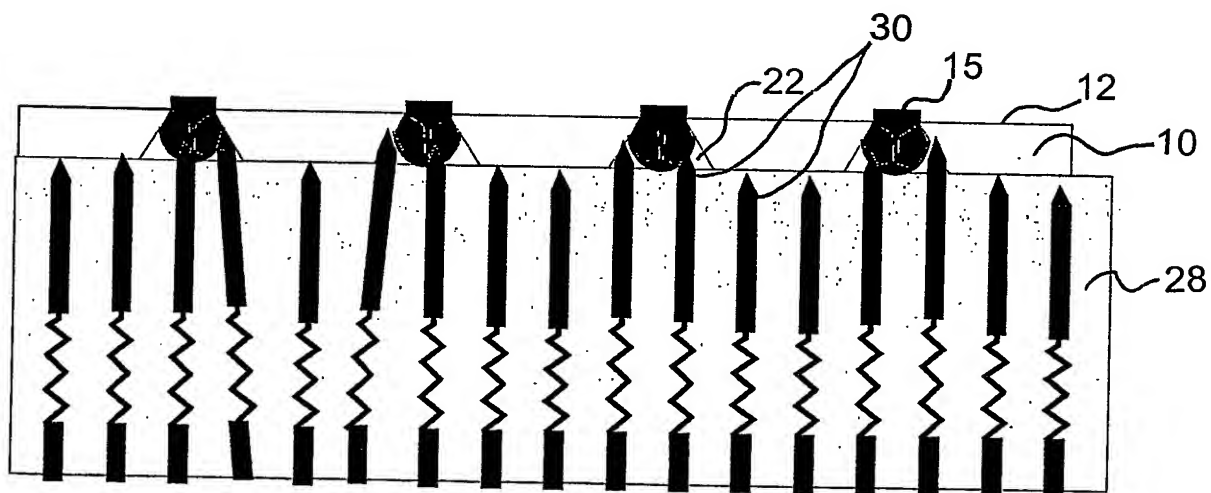


Fig. 7b

8/11

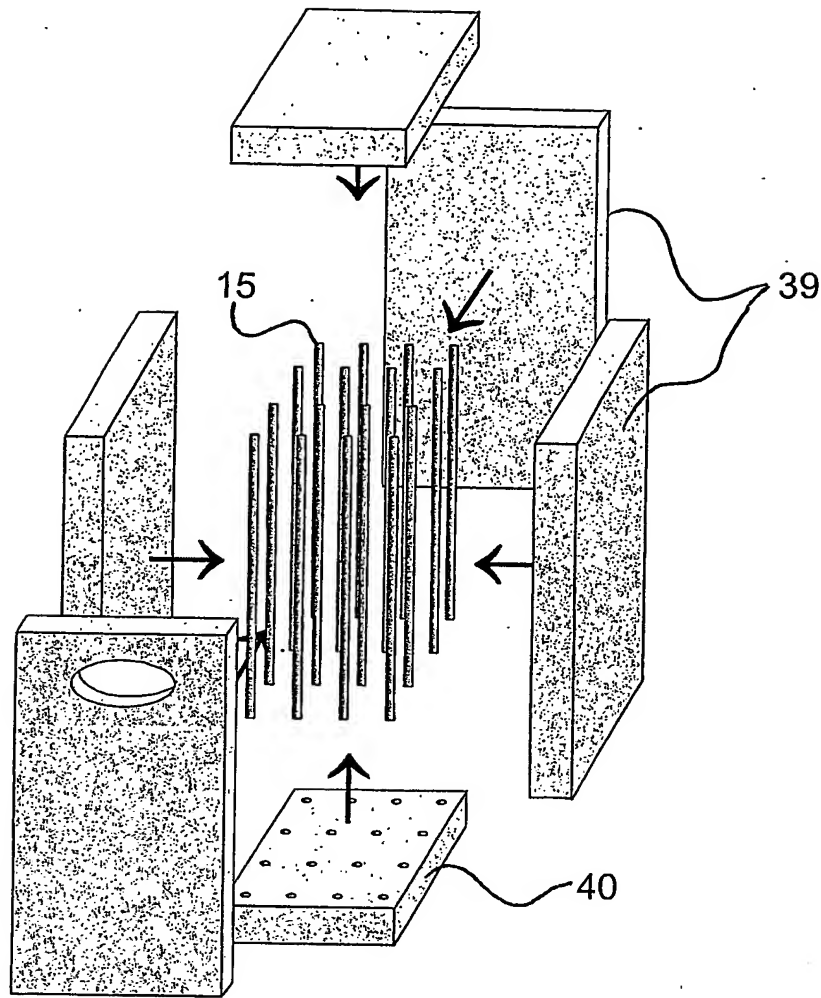


Fig. 8a

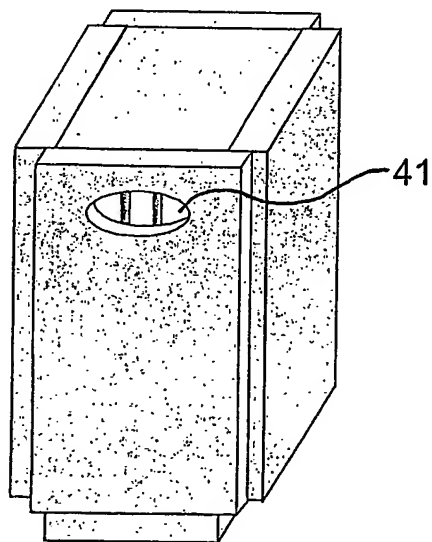


Fig. 8b

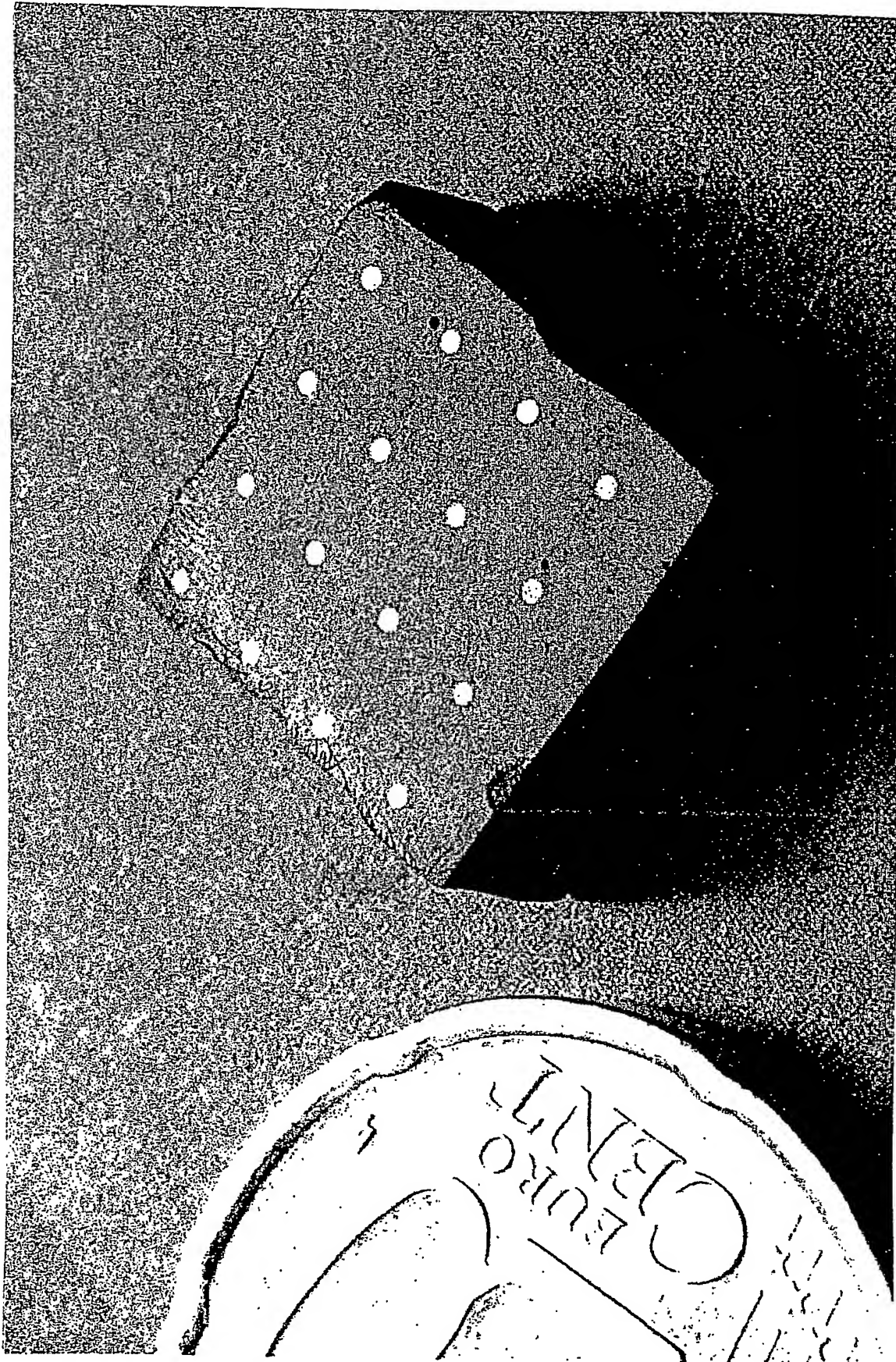


Fig. 9

10/11

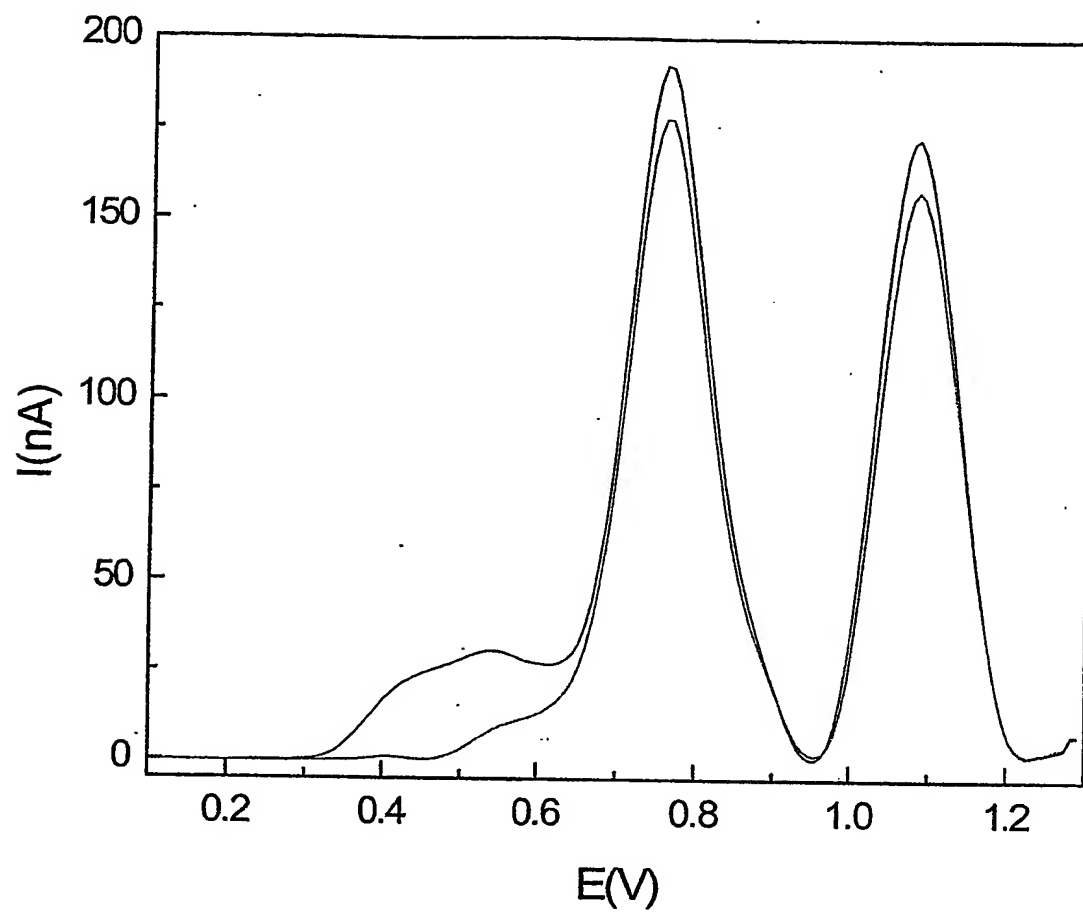


Fig. 10

11/11

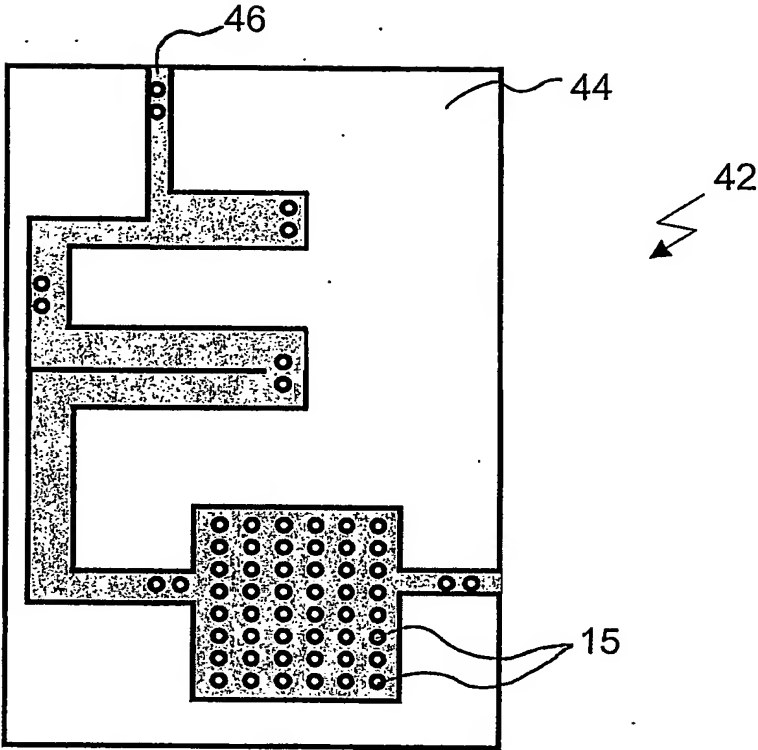


Fig. 11a

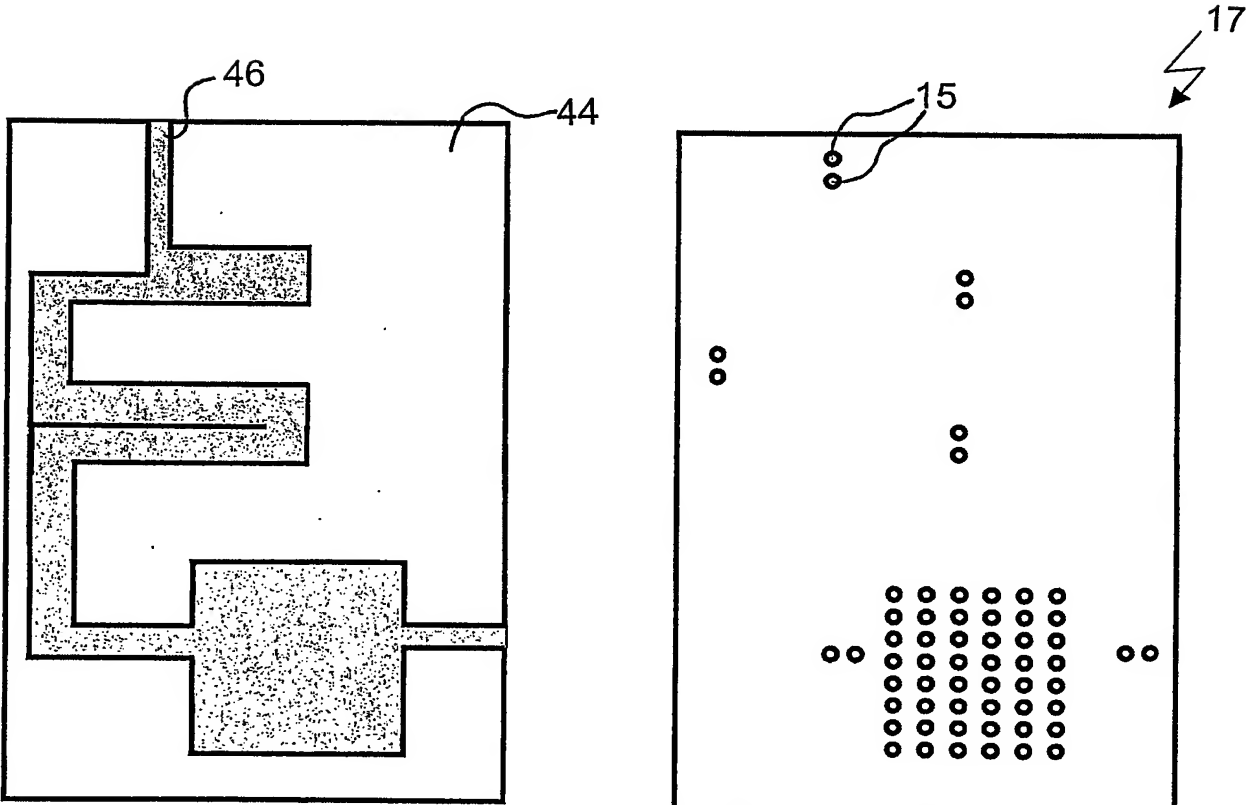


Fig. 11b

Fig. 11c

SEQUENZPROTOKOLL

<110> november Aktiengesellschaft Gesellschaft für Molekulare Medizin

5 <120> Vorrichtung zur Detektion eines Analyten

<130> 432739EH

<140>

<141>

10

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

15 <210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20 <220>

<221> modified_base

<222> (4)

<223> i

25 <400> 1

cctnccccaa tccctttatt

20

<210> 2

30 <211> 20

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

35 aataaagggg ttggggcagg

20

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.